

Национальная академия микологии

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 8

Выпуск 1.

Физиология и морфология грибов

Глава 1.

Генетика, биохимия и физиология грибов

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.01

Глава 2.

Коллекции и гербарии

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.02

Volume 8

Issue 1.

What's new in fungal physiology and morphology

Chapter 1.

Studies in fungal genetics, biochemistry and physiology

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.01

Chapter 2.

Fungal collections

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.02

Содержание выпуска 1

Глава 1. Генетика, биохимия и физиология грибов

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛИН-СПЕЦИФИЧНЫХ ПЕПТИДАЗ АЛКАЛОФИЛЬНЫХ И АЛКАЛОТОЛЕРАНТНЫХ ГРИБОВ Алкин Н.А., Дунаевский Я.Е., Белозерский М.А., Беякова Г.А., Терещенкова В.Ф., Филиппова И.Ю., Элпидина Е.Н.	5
ВЛИЯНИЕ АКТИВНОСТИ ВОДЫ НА РОСТ И ПИГМЕНТАЦИЮ СРЕДЫ АГЕНТАМИ ПЛЕСНЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ РОДА <i>ASPERGILLUS</i> Арашкова А.А., Гончарова И.А., Тригубович А.М., Летвинова В.С.	7
СВЕТ, СТРЕСС И ПАТОГЕНЕЗ У ГРИБОВ Белозерская Т.А.	9
СПЕКТР РАСТВОРИМЫХ УГЛЕВОДОВ ЦИТОЗОЛЯ И ЛИПИДОВ В ДИНАМИКЕ РОСТА И МЕЛАНИНООБРАЗОВАНИЯ <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i> Федосеева Е.В., Терёшина В.М., Данилова О.А., Януцевич Е.А., Прудникова Е.В., Терехова В.А.	10
ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ <i>MICRODOCHIUM SPP.</i> ПО СКОРОСТИ РОСТА И ПАТОГЕННЫМ СВОЙСТВАМ Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю., Орина А.С.	13
ПОИСК ГЕНОВ, ДЕЛЕЦИЯ КОТОРЫХ ВЛИЯЕТ НА КЛОНАЛЬНУЮ ЭКСПАНСИЮ ЭГОИСТИЧНЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДНК В КЛЕТКАХ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ Кашко Н.Д., Кнорре Д.А.	15
МЕЛАНИН <i>RHIZOCEPHALA FORTINII</i> И ЕГО ОБРАЗОВАНИЕ ГРИБОМ В МОНОКУЛЬТУРЕ Е.М. Кораблева, И.В. Стручкова	16
ГРИБЫ-ПАТОГЕНЫ: РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ Мамаев Д.В., Звягильская Р.А.	17
МЕМБРАННАЯ БИОЭНЕРГЕТИКА И САМООРГАНИЗАЦИЯ НА ПЕРЕДНЕМ КОНЦЕ РАСТУЩЕЙ ГИФЫ <i>NEUROSPORA CRASSA</i> Т.В. Потапова	19
СТРУКТУРА МИТОХОНДРИЙ ДРОЖЖЕЙ ПРИ ИНДУКЦИИ И ПОДАВЛЕНИИ МИТОФАГИИ Рогов А.Г., Голева Т.Н., Мамаев Д.В., Звягильская Р.А.	21
СОСТАВ ЛИПИДОВ СТАРЕЮЩЕГО МОДЕЛЬНОГО ГРИБА <i>PODOSPORA ANSERINA</i> В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОГРУЖЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Сеник С.В., Шахова Н.В., Кудрявцева О.А.	23
ПРИОН-ПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> Шейко Е.А.	25
СОРБЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ МИКРОМИЦЕТА <i>ALTERNARIA SP.</i> ПО ОТНОШЕНИЮ К ИОНАМ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И.	27
ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ГРИБОВ <i>LENTINULA EDODES, ORHIOCORYDACEPS SINENSIS</i> Ткачёва М.Н.	29

Глава 2. Коллекции и гербарии

МИКРОМИЦЕТЫ СТАРИННЫХ ГЕРБАРНЫХ ОБРАЗЦОВ Домрачева Л.И., Ковина А.Л.	31
ГРИБЫ РОДА <i>COLLETOTRICHUM</i> В ГЕРБАРИИ ЛАБОРАТОРИИ МИКОЛОГИИ И ФИТОПАТОЛОГИИ ВИЗР (ЛЕР) Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Ганнибал Ф.Б.	32
ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КОЛЛЕКЦИИ РОДОДЕНДРОНА (<i>RHODODENDRON L.</i>) ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ Головченко Л.А., Дишук Н.Г., Тимофеева В.А.	34
ПОДДЕРЖАНИЕ И ПОПОЛНЕНИЕ ГЕНОФОНДА КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ВИНODEЛИЯ «МАГАРАЧ» Иванова Е.В.	36
БЕЛОРУССКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ НЕПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ: КЛЮЧЕВОЙ ЭЛЕМЕНТ ИНФРАСТРУКТУРЫ, НЕОБХОДИМОЙ ДЛЯ РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ	

В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	
Кантерова А.В., Савчик А.В.	38
МИКРОМИЦЕТЫ ВОСТОЧНОЙ ПАЛЕАРКТИКИ В КОЛЛЕКЦИИ «ГКПМ-ОБОЛЕНСК»	
Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Юскевич В.В.	39
КОЛЛЕКЦИЯ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПТОРИОЗА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ВО ВСЕРОССИЙСКОМ НИИ ФИТОПАТОЛОГИИ	
Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н., Куркова Н.А., Коломиец Т.М.	42
ПРОБЛЕМЫ СОХРАННОСТИ УЧЕБНОГО ГЕРБАРИЯ ЛИХЕНИЗИРОВАННЫХ ГРИБОВ	
Пчелкин А.В.	45
ПОПОЛНЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННОГО ФОНДА ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ БЕЛОРУССКОЙ КОЛЛЕКЦИИ НЕПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ	
Савчик А.В., Кантерова А.В., Ладутько Е.И., Леонович С.И.	47
ГЕРБАРИЙ ГРИБОВ ИНСТИТУТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ ИМ. В.Ф.КУПРЕВИЧА НАН БЕЛАРУСИ (MSK-F)	
Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б.	50
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ И УСТАНОВЛЕНИЯ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ И КОЛЛЕКЦИОННЫХ КУЛЬТУР ГРИБОВ РОДА <i>FUSARIUM</i>	
Стахеев А.А., Самохвалова Л.В., Минаева Л.П., Киселёва М.Г., Завриев С.К.	52
НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ХРАНЕНИЮ РАБОЧЕЙ КОЛЛЕКЦИИ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР МИКРОМИЦЕТОВ В ПРОБИРКАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИАКРИЛАТА НАТРИЯ	
М.М. Ярмеева, А.Ф. Белосохов, С.Н. Еланский	54
ПОПОЛНЕНИЕ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ФГБНУ ВНИИФ ШТАММАМИ МИКРОМИЦЕТОВ	
Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Александрова А.В., Елизарова С.А.	55
МОБИЛИЗАЦИЯ И ПЕРВИЧНЫЙ АНАЛИЗ КОЛЛЕКЦИЙ <i>FOMES FOMENTARIUS</i> НА СРЕДНЕМ И ЮЖНОМ УРАЛЕ	
Жуйкова Е.В.	57

Глава 1.

Генетика, биохимия и физиология грибов

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.01

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛИН-СПЕЦИФИЧНЫХ ПЕПТИДАЗ АЛКАЛОФИЛЬНЫХ И АЛКАЛОТОЛЕРАНТНЫХ ГРИБОВ

Алкин Н.А.¹, Дунаевский Я.Е.², Белозерский М.А.², Белякова Г.А.¹, Терещенкова В.Ф.³, Филиппова И.Ю.³, Элпидина Е.Н.²

¹Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; ²Отдел белков растений, НИИ Физико-Химической Биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова;

³Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова

Введение. Микроорганизмы экстремальных местообитаний представляют большой интерес в биотехнологии, поскольку являются потенциальными источниками ферментов с уникальными свойствами. Так, на рубеже XX и XXI веков производители мощных средств начали внедрять в производство гидролитические ферменты алкалофильных бактерий. Успехи подобных проектов послужили стимулом для ряда исследований физиологии и биохимии грибов щелочных местообитаний как альтернативных продуцентов ценных ферментов. Одной из сравнительно малоизученных групп ферментов грибов является группа пролин-специфичных пептидаз (ПСП), играющих важную роль в усвоении богатых пролином белков, таких как проламины злаковых. Целью данной работы является биохимическая характеристика пролин-специфичных пептидаз алкалофильных и алкалотолерантных грибов.

Материалы и методы. *Культуры.* В работе были использованы 7 штаммов грибов из коллекции кафедры микологии и альгологии МГУ: *Acrostalagmus luteoalbus* V205, *Chordomyces antarcticus* M27, *Sodiomyces alkalinus* F11, *S. magadiensis* B39, *S. magadiensis* MAG5, *S. tronii* MAG3 и *Verticillium zaregamsianum* V201. Образцы культур хранили на скошенном агаре при температуре 4°C.

Питательные среды. Культуры поддерживали на щелочном мальт-агаре (ЩА) стандартного состава (Grum-Grzhimaylo et al., 2013). В экспериментах использовали модификацию ЩА с добавлением 10 г/л пептона без солодового экстракта и без добавления агара.

Получение культуральной жидкости. Агаризованные блоки с поверхностным мицелием со скошенного агара пересевали в колбы Эрленмейера объемом 150 мл, содержащие 50 мл жидкой щелочной ферментационной среды. Колбы помещали на орбитальную качалку при 25°C, скорость вращения 250 об/мин. На 14 сутки роста субстратный мицелий отделяли двойной фильтрацией через фильтровальную бумагу, после чего отфильтрованная жидкость очищалась повторно при помощи центрифугирования (6000 об/мин, 10 мин). Для предотвращения биологической контаминации в полученный фильтрат добавляли 8% азид натрия (2,5 мкл/мл NaN₃). Фильтраты хранили при 4°C.

Экстракция внутриклеточных ферментов. Глубинный мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрацией, промывали и измельчали в жидком азоте. Измельченный мицелий инкубировали в 0,1М универсальном буфере Бриттона-Робинсона (рН 7,0, далее УБ) с добавлением NaN₃ на магнитной мешалке в течение 12 ч (Britton, Robinson, 1931). Полученный экстракт центрифугировали при 10000 об/мин в течение 6-8 мин, супернатант хранили при 4°C.

Измерение активности ПСП. В лунку полистиролового планшета для иммуоферментного анализа помещали 175 мкл УБ с заданным рН, затем добавляли 20 мкл исследуемого фильтрата и 5 мкл хромогенного субстрата, несущего п-нитроанилидную метку (pNa). В работе использовали 10 мМ растворы специфических субстратов Ala-Pro-pNa и Pro-pNa в диметилформамиде. В контрольных лунках культуральную жидкость заменяли на 20 мкл УБ. Планшеты с реакционной смесью инкубировали в спектрофотометре ELx800 при 37°C от 45 до 120 мин в режиме кинетического анализа оптической плотности ($\lambda = 405$ нм); измерение оптической плотности реакционной смеси проводили каждые 5-10 минут. В работе использовали программное обеспечение Gen5 BioTek, данные обрабатывали в программе MO Excel 2018. За единицу ферментативной активности (ед.) принимали количество фермента в расчёте на 1 мг сухой массы мицелия, которое при гидролизе субстрата в указанных условиях инкубации вызывало за 1 ч увеличение оптической плотности раствора при 405 нм на 0,01.

Характеристика ПСП. Для определения оптимума рН работы ПСП при измерении активности использовали УБ различной кислотности, всего 13 вариантов эксперимента в диапазоне рН 3.1-10.5. Для определения рН-стабильности ПСП в лунке планшета 20 мкл исследуемого фильтрата доводили с помощью УБ до заданного рН, инкубировали 60 мин при постоянном перемешивании на качалке, после чего вносили УБ другой кислотности до объёма 195 мкл и рН 7.5, добавляли 5 мкл хромогенного субстрата и проводили измерения оптической плотности. Для определения стабильности ПСП в присутствии NaCl готовили модифицированный УБ с различной концентрацией NaCl: 2М, 3М, 4М,

5M, 6M, после чего проводили измерение активности ПСП стандартным образом.

Изучение влияния ингибиторов пептидаз на активность ПСП. В лунку планшета помещали 20 мкл исследуемого фильтрата, 170 мкл УБ (рН 7.5) и 5 мкл стокового раствора ингибитора. Полученную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин, после чего вносили 5 мкл хромогенного субстрата и проводили кинетический анализ ферментативной реакции.

Результаты и обсуждение. У всех 7 исследованных штаммов была обнаружена активность в отношении субстратов Pro-pNa и Ala-Pro-pNa, что свидетельствует о потенциальном синтезе пролинаминопептидазы (РАР) и дипептидилпептидазы (DPP4), соответственно. РАР-активность наблюдалась в фильтрате культуральной жидкости и отсутствовала в клеточном экстракте у всех штаммов, в то время как в локализации активности DPP4 были обнаружены различия. Алкалофильные представители рода *Sodiomyces* демонстрируют активность DPP4 как в клеточном экстракте, так и в фильтрате культуральной жидкости, однако у остальных исследованных штаммов активность DPP4 детектируется только внеклеточно. Эти результаты могут быть связаны как с наличием двух форм DPP4 (внеклеточной и внутриклеточной), так и с высоким уровнем синтеза DPP4 в мицелии *Sodiomyces* на момент остановки культивирования.

Характеристики трёх обнаруженных ПСП были измерены для штаммов *S. antarcticus* M27 (алкалотолерант) и *S. alkalinus* F11 (алкалофил), поскольку данные штаммы в предварительных экспериментах показали наибольшую удельную активность ПСП в указанных экологических группах. Было обнаружено, что DPP4 и РАР данных штаммов не проявляют активности в кислой среде (рН < 5.4). Наибольшую активность данные пептидазы показали в нейтральной и слабощелочной областях рН (7.0-8.0), при этом, несмотря на большую специализацию *S. alkalinus* к жизни в щелочной среде, оптимальным рН для пептидаз данного вида является рН 7.3, в то время как фермент обладающего более широкой экологической пластичностью *S. antarcticus* имеет оптимум рН 7.7. При рН 9.0 активности DPP4 и РАР обоих видов снижались наполовину. Приведённые данные свидетельствуют о слабощелочном оптимуме действия DPP4 у указанных видов, что согласуется с данными, полученными на гомологичных белках других грибов (Cooper, Woods, 2009).

Проведенный анализ полученных результатов показал, что алкалофильные грибы для выживания в условиях экстремально высокого рН должны обладать ферментами, которые не столько высокоактивны при щелочных рН, сколько щелочеустойчивы. Так, DPP4 *S. alkalinus* F11 устойчива в диапазоне рН 5.0-12.0 и сохраняет 23% активности после часовой инкубации при рН 13.0, а DPP4 алкалотолерантного штамма *S. antarcticus* M27, в свою очередь, проявляет значительно большую остаточную активность после инкубации в кислой среде (78% против 7% после инкубации при рН 3.0), но

полностью денатурирует при рН 13.0. Возможно, подобное различие объясняется различными экологическими стратегиями исследованных видов: алкалофильный *S. alkalinus* выживает в более узком диапазоне рН, но приспособлен к постоянному защелачиванию внешней среды, тогда как для *S. antarcticus* характерен широкий диапазон рН с оптимумом в нейтральной среде (Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Несколько иные результаты демонстрирует РАР: при сравнении двух штаммов РАР *S. alkalinus* F11 превосходит по устойчивости РАР *S. antarcticus* M27 как в щелочной, так и в кислой среде.

Солеустойчивость внеклеточной DPP4 обоих штаммов очень высока, в 6M NaCl ферменты сохраняют 64% и 63% от максимальной активности. Существенная потеря активности РАР при повышении ионной силы в сравнении с DPP4, вероятно, связана с внутриклеточной локализацией данного фермента.

DPP4 обоих штаммов эффективно ингибируются как специфическим ингибитором сериновых пептидаз, так и специфическими ингибиторами DPP4 (PMSE, вилдаглиптин, дипротин А, дипротин В). В то же время конкурентные ингибиторы сериновых пептидаз, такие как AP-MF и AP-Pip не вызвали снижения активности DPP4 в обоих случаях. Ингибитор цистеиновых пептидаз йодоацетамид и ингибитор металлопротеаз ЭДТА также не оказывали на фермент значимого воздействия. РАР обоих штаммов отличаются от DPP4 чувствительностью к перечисленным выше конкурентным ингибиторам, при этом чувствительность к ним РАР *S. alkalinus* F11 ниже, чем у сходного фермента *S. antarcticus* M27.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что алкалофильные и алкалотолерантные штаммы микромицетов, выделенные из щелочных почв и содовых озер, содержат ПСП, стабильные при высоких значениях рН и соли в окружающей среде. Высокий потенциал описанных ПСП позволяет рассматривать возможность их применение как в биотехнологическом, так и в медицинском аспектах, а сами ферменты представляют несомненный интерес для более детального изучения.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00852 А.

Список литературы

1. Grum-Grzhimaylo A.A., Debets A.V., van Diepeningen A.D., Georgieva M.L., Bilanenko E.N. *Sodiomyces alkalinus*, a new holomorphic alkaliphilic ascomycete within the Plectosphaerellaceae // *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 2013. V. 31. P. 147.
2. Cooper K.G., Woods J.P. Secreted dipeptidyl peptidase IV activity in the dimorphic fungal pathogen *Histoplasma capsulatum* // *Infection and immunity*. 2009. V. 77. №. 6. P. 2447-2454.
3. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Bondarenko S.A., Debets A.J., Bilanenko E.N. On the diversity of fungi from soda soils // *Fungal diversity*. 2016. V. 76. №. 1. P. 27-74.

ВЛИЯНИЕ АКТИВНОСТИ ВОДЫ НА РОСТ И ПИГМЕНТАЦИЮ СРЕДЫ АГЕНТАМИ ПЛЕСНЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ РОДА *ASPERGILLUS*

Арашкова А.А.¹, Гончарова И.А.², Тригубович А.М.¹, Летвинова В.С.¹

¹Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь,

²Белорусский научно-исследовательский институт документоведения и архивного дела, Минск, Республика Беларусь

Доступность воды является одним из важнейших факторов, влияющих на физиолого-биохимические свойства микромицетов. Низкий уровень активности воды характерен для целого ряда естественных и искусственных ниш и связан с низким содержанием влаги, кристаллизацией воды, наличием осмотически активных веществ в субстрате [1]. Во влажных условиях очаги плесневого поражения материалов могут быть вызваны многими видами микроскопических грибов, но при понижении влажности воздуха и активности воды состав контаминирующей микобиоты ограничивается ксеротолерантными штаммами [2]. Наиболее часто грибами, способными активно развиваться в помещениях в условиях низкой влажности субстрата являются представители рода *Aspergillus* [3].

Развитие колоний грибов рода *Aspergillus* в учреждениях культуры обычно проявляется в условиях повышенной влажности и недостаточного вентилирования, основным повреждающим фактором чаще всего является пигментация субстрата. При кратковременном увлажнении материала рост грибов может быть визуально незаметным, но после высыхания и гибели мицелия структура материала на поражённом участке остаётся ослабленной и с изменённой окраской. Большинство пигментов, характерных для видов рода *Aspergillus*, относятся к экзопигментам, окрашивающим субстрат. Способность к образованию трудноудаляемых пигментных пятен является одним из наиболее нежелательных свойств организмов, воздействующих на памятники искусства [4].

В качестве основной превентивной меры защиты культурно-исторических ценностей от плесневого поражения до настоящего времени остается своевременный визуальный осмотр.

Методы. Объектами исследования являлись микроскопические мицелиальные грибы, выделенные из помещений музеев, библиотек и архивов г. Минска, а также из пылевидных налетов на объектах музейного и архивного хранения.

Высев проб в чашки Петри с питательной средой осуществляли из 0,1 мл суспензии в стерильной воде четырьмя диаметрными штрихами с помощью стеклянной палочки. Обсемененность проб грибными спорами оценивали, не допуская зарастания мицелием всей поверхности питательной среды. Появление по штрихам четких полос, образованных колониями с одинаковыми культуральными признаками, свидетельствовало о наличии доминирования определенных видов грибов, что характерно для очагов плесневого поражения.

При оценке ксеротолерантности грибов для моделирования различных значений активности воды (a_w) в среду Чапека-Докса с 2 % глюкозы добавляли хлорид натрия или глицерин. Активности воды в среде без до-

бавления осмотически активных веществ считали равной 0,99.

Выход биомассы определяли весовым методом после отделения мицелия от культуральной жидкости фильтрованием и высушивания до постоянной массы при 100 °С. Расчет проводили на абсолютно сухой вес биомассы (АСВ).

Оценку накопления пигментов в культуральной жидкости грибов проводили путем спектрофотометрического анализа. Предварительно определяли максимум поглощения пигмента (λ_{max}) в ультрафиолетовой области и видимой части спектра (200–800 нм). Для этого культуральную жидкость грибов концентрировали на вакуумном роторном испарителе и фракционировали путем гель-фильтрации на колонке с Sephadex LH-20 при элюировании этанолом. В дальнейшем, сравнительную оценку продукции пигментов разными штаммами проводили по оптической плотности (OD) культуральной жидкости при λ_{max} .

Результаты и их обсуждение. Микологические обследования показали, что наиболее предпочтительным местообитанием грибов рода *Aspergillus* в качестве основного агента биоповреждения являются плохо проветриваемые помещения, застойные зоны воздуха и помещения с нарушенной системой вентиляции. Результаты микробиологического анализа проб пылевидных налетов показали, что количественный и качественный состав микобиоты хранилищ культурных ценностей значительно варьирует, но при проявлении явного доминирования одного вида, свидетельствовавшего о появлении очага плесневого поражения, агентами биоповреждения в большинстве случаев являются представители родов *Penicillium* и *Aspergillus*.

Культивирование агентов плесневого поражения рода *Aspergillus* на агаризованных средах с различным содержанием хлорида натрия показало наличие определенной видоспецифичности ксеротолерантных свойств. Большинство изолятов *A.versicolor* наиболее активно росли на средах с 8–12% NaCl, у *A. niger* этот диапазон был шире 4–12%, отдельные изоляты хорошо росли и на среде с 16% NaCl, но в этом случае лаг-фаза была значительно дольше, чем в контроле. У изолятов *A.versicolor* способность выделять в агаризованную среду розово-красные пигменты значительно варьировала и в меньшей степени зависела от концентрации NaCl. У изолятов *A. niger* интенсивность выделения желтых пигментов в агаризованную среду в большей степени реагировала на изменение активности воды.

Так как количественная оценка пигментообразования грибов в агаризованной среде представляет значительные трудности способность штаммов *A. niger* окрашивать среду в зависимости от активности воды изучали в глубинной культуре с добавлением глицерина в качестве осмотически активного вещества.

Таблица 1. Выход биомассы (АСВ) и оптическая плотность (OD) среды после 14 суток глубинного культивирования штаммов *A. niger* в условиях различной активности воды

Активность воды, a_w	<i>A. niger</i> AP-5		<i>A. niger</i> MX-2		<i>A. niger</i> CP-8	
	АСВ, г/л	OD	АСВ, г/л	OD	АСВ, г/л	OD
0,99	3,4	0,267	4,6	0,199	5,4	0,102
0,94	3,9	0,079	4,8	1,234	2,3	0,118
0,87	3,1	0,056	3,8	0,122	2,6	0,527

При изучении ксеротолерантности штаммов рода *Aspergillus*, выделенных из архивных документов (*A. niger* AP-5), темперной живописи (*A. niger* MX-2) и картонных коробок архивного хранилища (*A. niger* CP-8), установлено, что данные культуры обладают способностью к росту при пониженных значениях активности воды ($a_w=0,94$ и $0,87$). При $a_w=0,94$ выход биомассы штаммов *A. niger* AP-5 и *A. niger* MX-2 превышает данный показатель при $a_w=0,99$ (таблица 1).

В результате спектрофотометрического анализа установлено, что максимум поглощения λ_{max} желтого пигмента в культуральной жидкости исследуемых штаммов приходится на длину волны 410 нм. При $a_w=0,99$ наибольшей продукцией данного пигмента обладает штамм *A. niger* AP-5, присутствующий на архивных документах. Снижение a_w до $0,94$ стимулирует продукцию пигментов штаммами *A. niger* MX-2 и *Aspergillus* sp. CP-8. Наибольшей пигментирующей активностью при понижении a_w обладает штамм *A. niger* MX-2, у которого интенсивность поглощения желтого пигмента при 410 нм составляет 1,234 и 0,122 при $a_w=0,94$ и $0,87$, соответственно (таблица 1).

Следует отметить, что аспергиллы, колонизирующие строительные материалы самих музейных и архивных помещений, также обладают ксеротолерантными свойствами. Выделенные из музейного архива штаммы видов *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. puniceus* и *A. versicolor* проявляют способность к росту на среде с активностью воды $0,85$. При этом наиболее высокой радиальной скоростью роста колоний (до $0,6-0,9$ мм/сут) отличались штаммы *A. versicolor* и *A. niger*.

Микроскопические исследования ксеротолерантных штаммов, показали, что при росте на субстрате с пониженной активностью воды они обладают рядом морфологических особенностей: набухание и бифуркация конидиогенных головок, деформация фиалид,

кустистость конидиеносцев, извилистость и крючковатость мицелия. Следует отметить, что некоторые из обнаруженных признаков нетипичной микроморфологии обычно свойственны клиническим изолятам грибов рода *Aspergillus* [5].

В результате проведенного эксперимента выявлено, что агенты плесневого поражения рода *Aspergillus*, проявляющие устойчивость к понижению активности воды, обладают высоким адаптивным потенциалом и повреждающей способностью, в том числе, за счет усиления пигментообразования.

Список литературы

1. Понизовская В.Б., Антропова А.Б., Мокеева В.Л., Биланенко Е.Н., Чекунова Л.Н. Влияние активности воды субстрата и относительной влажности воздуха на развитие *Penicillium chrysogenum* Thom., *Aspergillus repens* (Corda) Sacc., *Trichoderma viride* Pers., выделенных из жилых помещений // Микробиология. – 2011. – Т. 80, № 3. – С. 372–379.
2. Ребрикова Н.Л., Понизовская В.Б. Экстремально ксерофильные грибы, обнаруженные в музейных фондах // Совр. микология в России. – 2015. – Т. 4. – С. 298–300.
3. Tanney J.B., Visagie C.M., Yilmaz N., Seifert K.A. *Aspergillus* subgenus *Polypaecilum* from the built environment // Studies in mycology. – 2017. – V. 88. – P.237–267.
4. 4Szcepanowska H., Mathia T.G., Belin P. Morphology of fungal stains on paper characterized with multi-scale and multi-sensory surface metrology // Scanning. – 2014. – V. 36. – P. 76–85.
5. Кулько А.Б. Атлас условно-патогенных грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций. – Москва : «Типография «Новости», 2012. – 155 с.

СВЕТ, СТРЕСС И ПАТОГЕНЕЗ У ГРИБОВ

Белозерская Т.А.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биохимии им. А.Н.Баха

В отличие от растений, использующих свет как источник энергии, свет у грибов является источником информации об изменяющейся внешней среде. С помощью специфических фоторецепторов свет контролирует у грибов прорастание спор, ветвление гиф, тропизмы, формирование склероциев, функционирование циркадных часов, метаболизм, ответы на стресс, абсорбцию питательных веществ, половое и бесполое воспроизведение, синтез вторичных метаболитов, распространение спор. Участие света в регуляции роста, метаболизма, развития и стрессоустойчивости несомненно должно проявляться в развитии патогенного потенциала грибных паразитов растений и животных [1, 2].

В клетках грибов присутствует несколько фотосенсорных систем, реагирующих на разные световые интенсивности и различные участки светового спектра: синюю, зеленую и красную области. Эти сенсорные процессы обеспечиваются функционированием до 11 фоторецепторов [3]. Фоторецепторные белки являются сенсорами света благодаря наличию хромофора – сорбирующей свет молекулы, связанной с белком, обеспечивающей чувствительность грибной клетки к определенной длине волны [4]. Наиболее изученными у грибов являются ответы на действие света сине-фиолетовой области спектра (350-500 нм). Фоторецепторы этих ответов – белки комплекса WCC (White Collar Complex), которые с помощью LOV домена (light, oxygen, voltage) связывают ФАД и контролируют процессы развития и воспроизведения у грибов. Гомологичные WCC белковые комплексы обнаружены у хитридиомицетов, зигомицетов, аскомицетов и базидиомицетов [5]. Секвенирование ряда грибных геномов привело в дальнейшем к выявлению фитохромов (рецепторы красного света), криптохромов (рецепторы синего света), а также сорбирующих синий и зеленый свет родопсинов, присущих некоторым аскомицетам и базидиомицетам.

Фоторецептор WCC (хромофор ФАД) функционирует прямо в ядре в качестве регулятора транскрипции, а фитохром, являющийся сенсором красного или дальнего красного света (хромофор – линейный тетрапиррол) индуцирует систему, проводящую сигнал из цитоплазмы в ядро. Сенсором зеленого света являются ретиналь-содержащие мембранные белки, однако эта передача сигнала все еще плохо изучена [3]. Свет вызывает первичные изменения хромофора, что, в свою очередь, приводит к конформационным изменениям в белке фоторецептора и меняет его активность, обеспечивая функционирование целого ряда сигнальных каскадов. Фоторецепторные молекулы с помощью сигнальных каскадов контролируют до 5-10% генома грибной клетки [4]. Таким образом, свет контролирует активность многих генов, метаболических и морфогенетических путей, адаптируя организм к меняющимся внешним условиям. Интересно, что грибные фоторецепторные молекулы не имеют ортологов в клетках

млекопитающих. Поэтому они могут с успехом использоваться как мишени для антигрибковых агентов, мало влияющих на клетки хозяина.

Вначале фоторецепцией считали способность к утилизации организмом менее губительного света (по длине волны), что вырабатывало устойчивость организма к разрушительному действию ультрафиолета (УФ) [4]. Например, у *Aspergillus fumigatus*, освещение темного мицелия синим светом (350-500 нм) приводило к последующей устойчивости как к УФ, так и к перекиси водорода в сравнении с пробами, выдержанными в темноте перед освещением. Способность видимого света вырабатывать в грибах устойчивость к УФ была выявлена и у *Cryptococcus neoformans*. Подобным образом патоген насекомых *Metarhizium robertsii* при росте на видимом свету образовывал конидии более устойчивые к УФ-В по сравнению с конидиями, культивируемыми в темноте. Более косвенные доказательства протекторного действия света были получены с помощью мутантов. Например, делеционные мутанты *S.neoformans* по гену *white collar-1* были гиперчувствительны к УФ, а аналогичные мутанты *Botrytis cinerea* демонстрировали гиперчувствительность к H₂O₂. Свет, по-видимому, является консервативным грибным инструментом, обеспечивающим устойчивость к УФ-стимулируемому разрушению, в первую очередь, к непосредственному разрушению ДНК, а также устойчивость к окислительному стрессу. Действительно, фотоиндукция ДНК-репарирующих ферментов (фотолиаз и/или УФ эндонуклеаз) была выявлена у разных видов грибов. Синий свет вызывал этот ответ у аскомицетов *Neurospora crassa*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *Fusarium oxysporum*, *Cercospora zeaе-maydis*. У *S. neoformans*, индукция эндонуклеазы (Uve1) зависела от WCC, так же как и индуцируемая светом устойчивость к УФ. Стимулируемая светом способность к пигментообразованию у грибов, является одним из основных способов защиты от стрессорных воздействий [5].

Свет ингибирует прорастание спор у грибов и снижает их радиальную скорость роста как непосредственный источник стресса. Ранее, показано, что как синий, так и красный свет ингибируют прорастание спор *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, *Puccinia graminis* и *Colletotrichum acutatum*. Как в случае *A. nidulans*, так и *A. fumigatus*, ортолог фитохрома включается в этот ответ, тогда как ортолог *wc-1* не является существенным. У мутантов по фитохрому в темноте прорастание спор такое же, как у дикого типа на свету. Свет, по-видимому, является ингибитором фитохром-медируемого прорастания. Кроме красного и синего света, зеленый свет у *B. cinerea* ингибирует прорастание конидий, однако участие ортолога опсина в этом процессе неизвестно [4]. Важно, что влияние света на рост может считаться рецептор-зависимым процессом, а не просто спонтанным влиянием активных форм кислорода, количество которых сильно возрастает под действием света. С точки зрения эволюции ингибирование роста

светом может быть выгодно, стимулируя организм к поиску лучших условий прорастания (более низкая световая интенсивность).

В последнее время накапливается все больше данных относительно участия света (фоторецепторов) в патогенезе грибов. Например, показано, что у *A. fumigatus* наряду с ингибированием скорости прорастания конидий, свет индуцирует образование пигментов, устойчивость к УФ и к окислительному стрессу, а также стимулирует структурную перестройку клеточной стенки, способствуя выживанию этого гриба в клетках хозяина [6]. Выявлено также, что пятно инфекции, вызываемое *S. acutatum*, возбудителем антракноза перца, значительно больше на свету (белом, красном, зеленом), чем в темноте. С другой стороны, свет ингибирует инфекционные проявления *Magnaporthe oryzae* – патогена риса, что связано с функционированием ортолога WC-1. Более того, делеция *wc-1* приводит к ослаблению вирулентности *V. cinerea*, вызывающего серую плесень овощных культур, а также патогена листьев кукурузы *S. zae-maydis*. Интересно, что делеция ортолога WC-1 ослабляет вирулентность двух патогенов человека – базидиомицетных дрожжей *S. neoformans* и аскомицета *Fusarium oxysporum*. Поскольку рецепция света внутри хозяина, по-видимому, незначительна, возможно, WCC регулирует в темноте какие-то другие гены, например гены токсинов или гены стрессоустойчивости [4]. Фоторецепция, по-видимому, консервативно связана с грибным патогенезом и ее отдельные этапы могут служить в качестве новой мишени для антифунгальной терапии как у растений, так и у животных.

К сожалению, мы не можем сегодня объяснить наличия такого большого количества фоторецепторов (до 12 у *V. cinerea*) в клетках патогенных грибов. Еще недостаточно полно изучены механизмы передачи светового сигнала с помощью разных фоторецепторов грибной клетки. В первую очередь, это касается родопсинов и криптохромов. Не исключено, что рецепторы синего света, такие как криптохромы могли бы играть суще-

ственную роль в передаче сигнала света у мутантов с делецией *wc-1*, как выявлено у устойчивого к УФ *A. fumigatus* или в процессе образования пигментов у *Fusarium fujikuroi* [4].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что паразитические организмы, по-видимому, способны определять свет *in vivo* с помощью WC-1 для индукции клеточных путей, связанных с вирулентностью. Альтернативным может быть предположение, что WCC, возможно, регулирует гены вирулентности в темноте. В любом случае WCC, и потенциально другие фотосенсорные системы могут, по-видимому, определять новые пути, связанные с вирулентностью через разные механизмы сигнальной трансдукции у разных грибных видов.

Список литературы

1. Fuller K.K., Dunlap J.C., Loros J.J. Fungal light sensing at the bench and beyond. *Adv.Genet.* 2016. V. 96, Ch.1., pp. 1-51;
2. Thind T.S., Schilder A.T. Understanding photoreception in fungi and its role in fungal development with focus on phytopathogenic fungi. *Indian Phytopathology*, 2018, <https://doi.org/10.1007/s42360-018-0025-z>.
3. Yu Zh., Fischer R. Light sensing and responses in fungi. *Nature Rev. Microbiology*. 2018. V. 27. P. 25-36.
4. Fischer R., Aguirre J., Herrera-Estrella A., Corrochano L.M. The complexity of fungal vision/ *Microbiol.Spec.* 4(6):doi:10.1128.FUNK-0020-2016.
5. Belozerskaya T.A., Gessler N.N., Isakova E.P., Deryabina Yu.I. Neurospora crassa light signal transduction is affected by ROS. *J.Signal Transduction*. V. 2012. Article ID 791963.
6. Fuller K.K., Ringelberg C. S., Loros J.J., Dunlap J.C. The fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* regulates growth, metabolism, and stress resistance in response to light. *Amer.Soc.Microb.* 2013. Volume 4 Issue 2 e00142-13.

СПЕКТР РАСТВОРИМЫХ УГЛЕВОДОВ ЦИТОЗОЛЯ И ЛИПИДОВ В ДИНАМИКЕ РОСТА И МЕЛАНИНООБРАЗОВАНИЯ *ALTERNARIA ALTERNATA*

Федосеева Е.В.¹, Терёшина В.М.², Данилова О.А.², Януцевич Е.А.²,
Прудникова Е.В.³, Терехова В.А.^{3,4}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва;

²Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва; ³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва;

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Клеточные мембраны жизненно важны для поддержания целостности клетки и являются первой структурой клетки, участвующей во взаимодействиях с внешней средой (Mantil et al., 2019). Показана роль мембранных липидов в регуляции активности ферментов и экспрессии генов, эндо- и экзоцитозе у грибов (McMahon, Gallop, 2005). Они могут способствовать устойчивости к антибиотикам и стрессу, адгезии и образованию биопленок, а также секреции факторов вирулентности (Rella et al., 2016). Состав липидов ва-

рирует в зависимости от систематического положения и условий роста грибов (Weete et al., 2012). Так, меланинпродуцирующие виды в составе мембранных липидов содержат более высокий процент эргостерина по сравнению с видами, не продуцирующими меланин (Mantil et al., 2019).

Осмолиты представлены у грибов в основном трегалозой и полиолами, и, по современным представлениям, являются не только совместимыми соединениями, но и цитопротекторами (Yancey, 2005). Трегалоза стаби-

лизует макромолекулы и мембраны клетки в условиях различных стрессорных воздействий: осмотического, теплового и окислительного шоков, обезвоживания, замораживания, гипоксии и других (Камзолкина, Дунаевский, 2015; Glatz et al., 2016). Маннит выполняет роль осмопротектора и антиоксиданта (Patel, Williamson, 2016). Высокий уровень маннита требуется для увеличения осмотического потенциала в клетках (Камзолкина, Дунаевский, 2015). Выявлена взаимосвязь меланинообразования и вирулентности грибов с углеводными составом клетки, в том числе маннитом и трегалозой (Zhong et al., 2008; Al-Bader et al., 2010).

Целью работы было изучение состава растворимых углеводов цитозоля и липидов в динамике роста и меланинообразования фитопатогенного гриба.

В качестве объекта исследования был выбран почвенный штамм меланинпродуцирующего фитопатогенного гриба *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912) Штамм предоставлен к.б.н. Ивановой А.Е. из коллекции Кафедры биологии почв Факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова. Гриб культивировали на жидкой стандартной среде Чапека с содержанием сахарозы 3 г/л. Выращивание проводили в колбах емкостью 250 мл со 100 мл среды на качалке (2500-3000 об/мин) при температуре 22-24°C. Отбор проб для проведения биохимических анализов производили на 1-ые, 2-ые, 4-ые и 6-ые сутки роста.

Состав нейтральных липидов анализировали методом восходящей ТСХ на стеклянных пластинках с силикагелем 60 (Merck, Германия). Для разделения нейтральных липидов с помощью одномерной ТСХ (Кейтс, 1975). Разделение фосфо- и сфинголипидов проводили с помощью двумерной ТСХ (Benning et al., 1995). Хроматограммы проявляли опрыскиванием серной кислотой в этаноле с последующим нагреванием при 180°C. Для идентификации липидов использовали индивидуальные метчики и качественные реакции; для установления сфинголипидной природы гликолипидов использовали метод омыления (Кейтс, 1975). Нейтральные липиды идентифицировали с помощью индивидуальных метчиков. Для определения количества фосфолипидов и сфинголипидов использовали соответствующие стандарты, денситометрию и компьютерную программу Dens. Для определения состава жирных кислот мембранных липидов получали метиловые эфиры и анализировали методом ГЖХ.

Экстракцию растворимых сахаров мицелия проводили кипящей водой в течение 20 мин четырехкратно. Из полученного экстракта удаляли белки (Somogyi, 1945). Дальнейшую очистку экстракта углеводов от заряженных соединений проводили, используя комбинированную колонку с ионообменными смолами. Состав углеводов определяли методом ГЖХ, получая из лиофильно высушенного экстракта триметилсилильные производные сахаров (Бробст, 1975). В качестве внутреннего стандарта использовали α -метил-D-маннозид).

Содержание углеводов цитозоля изменялось по мере роста *A. alternata* в диапазоне от $8,7 \pm 0,3\%$ до $15,8 \pm 2,7\%$ от сухой биомассы. Максимальное значение наблюдалось на 4-ые сутки роста, когда начинался синтез меланина и потемнение пеллет. Далее, на 6-ые сутки роста, содержание углеводов сокращалось до значения,

близкого ко 2-ым суткам. Было идентифицировано семь углеводов и полиолов: глицерин, эритрит, арабит, глюкоза, маннит, инозит и трегалоза. Доминировали трегалоза, маннит и глюкоза. Доля трегалозы возрастала от 1-ых до 4-ых суток роста в диапазоне от $12,1 \pm 0,7\%$ до $56,1 \pm 6,6\%$. Таким образом, именно за счет прироста трегалозы увеличивалось общее содержание углеводов на 4-ые сутки роста. Далее, к 6-ым суткам, происходило снижение трегалозы до значения $41,9 \pm 3,6\%$. Доля маннита, наоборот, снижалась в процессе роста гриба. Доля глюкозы возрастала от 1-ых до 6-ых суток роста в диапазоне от $1,2 \pm 0,1\%$ до $20,9 \pm 1,0\%$ (рис. 1а).

В работе (Al-Bader et al., 2010) биосинтез трегалозы был связан с вирулентностью патогенных грибов на примере *Aspergillus fumigatus*. При делеции генов, кодирующих участвующие в биосинтезе трегалозы белки, наблюдали эффект снижения патогенности *A. fumigatus*. Также было показано (Ruijter et al., 2003), что уровень маннита снижался в процессе созревания конидий *A. niger*. По мнению авторов, маннит поддерживает стрессоустойчивость конидий.

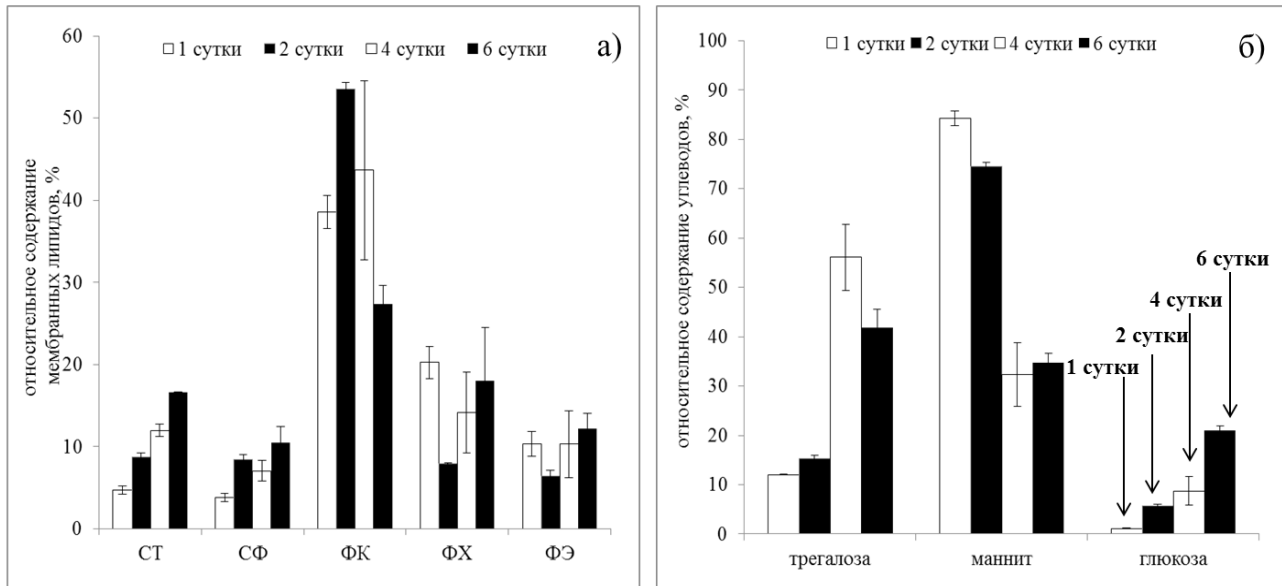
В составе мембранных липидов гриба *A. alternata* был идентифицирован комплекс липидов, включающий фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилэтаноламины (ФЭ), кардиолипины, фосфатидные кислоты (ФК), фосфатидилсерины, лизофосфатидилэтаноламины, фосфатидинозиты, лизофосфатидилхолины, сфинголипиды (СЛ), стерины (Ст). Кроме этого было обнаружено три неидентифицируемых по маркерам липидов (X1, X2, X3). К доминирующим можно отнести стерины, сфинголипиды, фосфатидные кислоты, кардиолипины, фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины.

ФХ и ФЭ имели схожую динамику: со 2-ые по 6-ые сутки роста происходил прирост их относительного содержания (при этом ФХ было в целом в два раза больше, чем ФЭ). Относительное содержание ФК нарастало ко 2-ым суткам роста ($53,5 \pm 0,8\%$), а затем снижалось к 6-ым суткам роста культуры ($37,3 \pm 3,4\%$). Если рассматривать ФК как предшественники ФХ и ФЭ, логично предположить, что по мере роста грибной культуры снижение содержания ФК сопровождалось повышением содержания ФЭ и ФХ. СЛ и Ст также имели схожую динамику, которая выражалась в тенденции к увеличению относительного содержания к 6-ым суткам роста, то есть по мере накопления культурой меланина (рис. 1б).

Данные по составу мембранных липидов в целом согласуются с исследованиями других авторов липидного состава меланинпродуцирующих грибных культур. Анализ стеринов показал, что *A. solani* содержит самый высокий процент эргостерина (по сравнению с *Fusarium sambucinum* и *Pythium sulcatum*) (Mantil et al., 2019). Авторы (Wise et al., 2014) определили, что именно *A. solani* является наиболее толерантным видом по сравнению с *F. sambucinum* и *P. sulcatum* при воздействии фунгицида фенгидина.

В составе запасных липидов гриба *A. alternata* было идентифицировано 4 липида. Относительное содержание свободных жирных кислот (СЖК) увеличивалось от 1-ых до 6-ых суток роста в диапазоне от $5,6 \pm 0,5\%$ до $27,4 \pm 3,4\%$. Доля триацилглицеридов (ТАГ) плавно снижалась в диапазоне от $74,3 \pm 5,2\%$ до $47,5 \pm 4,8\%$. Ди-

Рис. 1. Динамика относительного содержания углеводов цитозоля (а) и мембранных липидов (б). Обозначения: стеролы – СТ; сфинголипиды – СФ; фосфатидные кислоты – ФК; фосфатидилхолины – ФХ; фосфатидилэтаноламины – ФЭ.



динамика диацилглицеридов (ДАГ) отличалась от динамики ТАГ: относительное содержание ДАГ слабо увеличивалось от 1-ых до 6-ых суток роста в диапазоне от $19,7 \pm 2,7\%$ до $22,8 \pm 2,8\%$.

В динамике роста *A. alternata* наблюдалось повышение долей трегалозы и глюкозы на фоне снижения маннита. Наибольшее количество трегалозы совпадало с началом меланинообразования. Характерной особенностью гриба на всех стадиях роста было преобладание ФК в составе мембранных липидов. В процессе роста наблюдалось повышение долей ФС, ФЭ, СТ и СЛ на фоне снижения ФК. Таким образом, образование меланина в стадии поздней трофофазы сопровождалось увеличением количества трегалозы в составе растворимых углеводов цитозоля, а также снижением доли ФК и увеличением стероидов в составе мембранных липидов

Работа выполнена при поддержке гранта РРФИ №18-04-01218.

Список литературы

- Mantil E., Crippina T., Avis T.J. 2019. Supported lipid bilayers using extracted microbial lipids: domain redistribution in the presence of fengycin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 178: 94-102.
- McMahon H.T., Gallop J.L. 2005. Membrane curvature and mechanisms of dynamic cell membrane remodelling. *Nature*. 438 (7068): 590-596.
- Rella A., Farnoud A.M., Poeta M. 2016. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. *Prog. Lipid Res.* 61: 63-72.
- Weete J. 2012. Fungal lipid biochemistry: distribution and metabolism, Springer Sci. Bus. Media.
- Yancey P.H. 2005. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *J. Exp. Biol.* 208 (15): 2819-2830.
- Камзолкина О. В., Дунаевский Я. Е. 2015. Биология грибной клетки. М.: Товарищество научных изданий КМК, 240 с.
- Glatz A., Pilbat A., Németh G.L., Vince-Kontár K., Jósavay K., Hunya Á. et. al. 2016. Involvement of small heat shock proteins, trehalose, and lipids in the thermal stress management in *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell Stress Chaperones*. 21 (2): 327-338.
- Patel T.K., Williamson J.D. 2016. Mannitol in plants, fungi, and plant – fungal interactions. *Trends Plant Sci.* 21(6): 486-497.
- Zhong, J., Frases, S., Wang, H., Casadevall, A., Stark, R.E. 2008. Following fungal melanin biosynthesis with solid-state NMR: biopolymer molecular structures and possible connections to cell-wall polysaccharides. *Biochemistry*. 47: 4701-4710.
- Al-Bader N., Vanier G., Liu H., Gravelat F.N., Urb M.et al. 2010. Role of trehalose biosynthesis in *Aspergillus fumigatus* development, stress response, and virulence. *Infection And Immunity*. July: 3007-3018
- Кейтс М. Техника липидологии / под ред. Краснова Р.И. Москва: Мир, 1975. 324 с.
- Benning C., Huang Z.H., Gage D.A. 1995. Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cells of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. *Arch. Biochem. Biophys.* 317 (1): 103-111.
- Somogyi M. 1945. Determination of blood sugar. *J. Biol. Chem.* 160 (1): 69-73.
- Бробст К.М. 1975. Газожидкостная хроматография триметилсилильных производных сахаров. Методы исследования углеводов / под ред. Хорлин А.Я. Москва: Мир, 445 с.
- Ruijter, G.J., Vax, M., Patel, H., Flitter, S.J., van de Vondervoort, P.J., de Vries, R.P., vanKuyk, P.A., Visser, J., 2003. Mannitol is required for stress tolerance in *Aspergillus niger* conidiospores. *Eukaryot. Cell* 2: 690-698.
- Wise C., Falardeau J., Hagberg I., Avis T.J. 2014. Cellular lipid composition affects sensitivity of plant pathogens to fengycin, an antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* strain CU12. *Phytopathology*. 104: 1036-1041.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *MICRODOCHIUM* SPP. ПО СКОРОСТИ РОСТА И ПАТОГЕННЫМ СВОЙСТВАМ

Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю., Орина А.С.

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

В последнее время наблюдается рост научного интереса к изучению грибов рода *Microdochium* Syd. & P. Syd. [1-6]. Известно, что эти грибы вызывают вредоносное заболевание зерновых культур и многолетних трав – снежную плесень [7]. Кроме того, виды *Microdochium* встречаются в составе микобиоты зерна [8, 9]. Ежегодно проводимый нами мониторинг зараженности зерна из разных регионов России показал повсеместную встречаемость грибов рода *Microdochium* в образцах пшеницы, ржи, ячменя и овса. Видовая идентификация этих грибов по морфологическим признакам затруднительна, поскольку виды *M. majus* (Wollenw.) Glynn & S.G. Edwards и *M. nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett являются морфологическими двойниками, а штаммы вида *M. seminicola* Hern.-Restr., Seifert, Clear & B. Dorn, как правило, не формируют спороношение в чистой культуре.

В настоящее время всё шире используют молекулярно-генетические методы, которые повышают точность идентификации грибов. Оценка зараженности зерна озимой пшеницы с помощью реал-тайм ПЦР позволила выявить присутствие двух видов *Microdochium*, а также установить преобладание количества ДНК *M. nivale*, по сравнению с ДНК *M. majus* [9]. Согласно суммарной характеристике морфолого-культуральных признаков штаммов *Microdochium*, выделенных из зерновых культур на территории России [10], а также филогении на основе последовательностей четырех участков ДНК (ITS, LSU, VTUB и RPB2), в России на зерновых культурах выявили четыре вида *Microdochium*: *M. bolleyi* (R. Sprague) de Hoog & Herm.-Nijh., *M. majus*, *M. nivale* и *M. seminicola*. В отличие от широко распространенных видов *M. bolleyi*, *M. majus* и *M. nivale*, штаммы *M. seminicola* встречались на территории нашей страны исключительно в зерне образцов, полученных из Уральского и Западно-Сибирского регионов. Знание физиологических и биохимических характеристик, таких как патогенность, скорость роста, а также факторов, влияющих на метаболизм грибов, важно для понимания их взаимоотношений с растением и другими участниками сообщества.

Целью исследования являлась сравнительная характеристика по скорости роста и патогенности к озимой пшенице штаммов грибов *Microdochium* российского происхождения.

Материалы и методы. Для исследований выбрали 40 штаммов *M. bolleyi*, *M. majus*, *M. nivale* и *M. seminicola*, выделенных в период 2007-2019 гг. из злаковых культур с территории России и хранящихся в коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР. Для экспериментов все штаммы *Microdochium* выращивали на агаризованной картофельно-сахарозной среде (КСА) в чашках Петри в течение семи суток при 24 °С в темноте.

Способность штаммов разных видов *Microdochium* накапливать биомассу оценивали методом глубинно-

го культивирования. Четыре штамма каждого вида выращивали в 100 мл картофельно-сахарозной среды (КС) или среды Чапека в качалочных колбах. Из культур грибов на КСА вырезали диски диаметром 5 мм, вносили по три диска в колбы с жидкой питательной средой и инкубировали в термостатируемых орбитальных шейкерах Innova 44R (Eppendorf, Германия) при 20 °С при постоянном перемешивании со скоростью 100 об/мин в течение 7 суток. Отделение биомассы гриба от культуральной жидкости проводили методом вакуум-фильтрации через предварительно взвешенные бумажные фильтры (Экрос, Россия) с помощью насоса Millipore XF5423050 (Alsace, Франция). Фильтры с биомассой высушивали при 50 °С в сушильном шкафу FD 53 (Binder, Германия) в течение суток и затем взвешивали.

Патогенность всех штаммов оценивали путем инокуляции отрезков листьев озимой пшеницы сорта Васса. Растения пшеницы выращивали в течение 10-14 суток в горшках с почвой при постоянном освещении. Отрезки листьев длиной 5-7 см помещали в кюветы на фильтровальную бумагу, увлажненную водным раствором 0,004 % бензимидазола, и их края прижимали смоченными в растворе ватными полосками. В центре каждого отрезка листьев делали укол стерильной иглой, и раскладывали на место укола диски культур *Microdochium* мицелием вниз. Для предотвращения высыхания на каждый диск наносили 10 мкл стерильной воды. Каждым штаммом инокулировали по 10 отрезков листьев. В контроле на отрезки листьев раскладывали диски чистой КСА. Кюветы накрывали стеклом, выдерживали при 20 °С, влажности 60 % и переменном освещении – 16 ч свет / 8 ч темнота. Через пять суток после инокуляции измеряли длину симптома поражения (мм) каждого отрезка.

Все эксперименты выполняли в двукратной повторности. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ MS Excel 2010 и STATISTICA 10.0 (ANOVA). Сравнение средних значений проводили с помощью t-критерия Стьюдента для независимых переменных, различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В условиях глубинного культивирования накопление биомассы штаммами всех видов *Microdochium* на среде из картофельного отвара оказалось выше, по сравнению с их ростом на среде Чапека (Рис. 1), что может являться следствием потребности этих грибов в витаминах и факторах роста. Разницы в накоплении биомассы анализированных видов *Microdochium* на среде Чапека не выявлено.

Штаммы *M. bolleyi* на среде КС в среднем накапливали достоверно больше биомассы (1048 ± 18 мг), по сравнению со штаммами других видов. Стандартное отклонение от среднего показателя веса биомассы для *M. bolleyi* было существенно ниже в случае культивирования на КС (3 %), по сравнению со средой Чапека

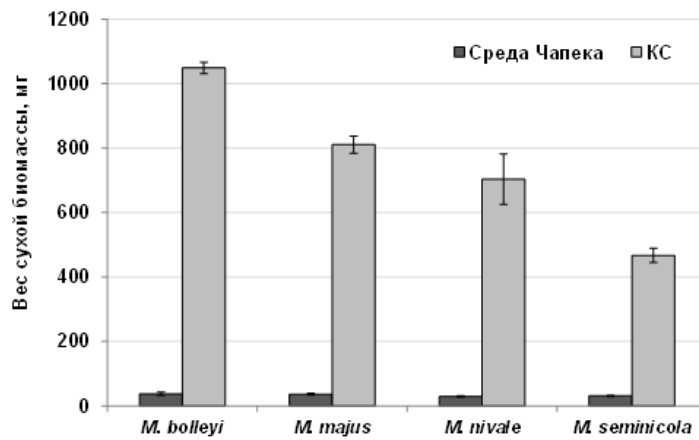


Рис. 1. Биомасса грибов *Microdochium* spp. при культивировании на различных средах (20 °С, 7 суток, в темноте)

(28 %), что свидетельствует о благоприятности этого субстрата для роста штаммов этого вида. Наименьший выход биомассы при росте на КС отмечен у штаммов *M. seminicola* – в среднем 467 ± 22 мг. Ранее нами показано, что при оптимальной температуре 20 °С штаммы *M. seminicola* на агаризованных питательных средах растут медленнее, по сравнению со штаммами *M. majus* и *M. nivale* [10].

Инокуляция отрезков листьев пшеницы штаммами *Microdochium* приводила к развитию некрозов и хлорозов растительной ткани. Реакция отрезков листьев на инокуляцию *M. majus* и *M. nivale* проявлялась в виде симптомов обоих типов, и, поэтому длина поражения листьев значительно варьировала: от 1,7 мм (штамм *M. nivale* MFG60144, симптом «некроз») до 26,6 мм (штамм *M. majus* MFG60127, симптом «хлороз»). Между патогенными свойствами штаммов *M. majus*, *M. nivale* и *M. seminicola* существенных различий не обнаружено. Инокуляция листьев пшеницы штаммами *M. seminicola* вызывала поражения длиной от 1,6 до 19,0 мм (Рис. 2). Значительная вариабельность патогенных свойств штаммов *M. nivale* и *M. majus* при инокуляции ими зер-

новых культур отмечалась ранее [11], и, по всей видимости, ключевую роль в патогенности того или иного штамма грибов играют другие факторы, например, их адаптация к растению-хозяину или температура окружающей среды.

Инокуляция листьев пшеницы штаммами *M. bolleyi* приводила только к небольшим некрозам вокруг места укола длиной до 4,8 мм, что достоверно отличало их от других видов *Microdochium*. Бессимптомная колонизация растительной ткани штаммами *M. bolleyi* отмечалась ранее, что позволяет характеризовать этот вид *Microdochium* как «истинный эндофит» [12].

Установлена достоверная связь между патогенными свойствами штаммов *M. seminicola* и их субстратным происхождением ($p=0,0093$). Выявлено, что штаммы *M. seminicola*, выделенные из зерна пшеницы, были в среднем агрессивнее к листьям пшеницы ($13,2 \pm 1,4$ мм), по сравнению со штаммами, выделенными из зерна овса ($1,4 \pm 0,5$ мм). В работе норвежских исследователей при инокуляции многолетних злаковых трав были показаны межвидовые и внутривидовые различия в патогенности штаммов *M. majus* и *M. nivale*, выделенных из

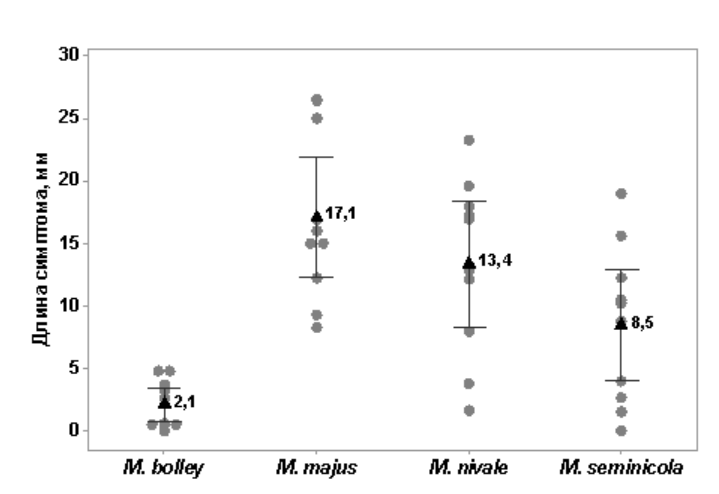


Рис. 2. Патогенность штаммов разных видов *Microdochium* к отрезкам листьев пшеницы. Приведены значения для каждого штамма (•), а также среднее (▲) с доверительным интервалом, при уровне значимости $p < 0,05$

злаковых трав. Выявлена более высокая агрессивность штаммов *M. nivale* из трав, по сравнению со штаммами, выделенными из зерновых культур [6]. Полученные результаты позволяют предполагать специализацию видов *Microdochium* по отношению к субстрату, которую следует учитывать при изучении этой группы грибов.

Исследование выполнено при поддержке РФФ
(№ проекта 19-76-30005).

Список литературы

1. Ren R., Yang X., Ray R.V. (2015) // Eur J Plant Pathol, 141: 281-294, doi: 10.1007/s10658-014-0541-3
2. Jonavičienė A., Supronienė S., Semaškienė R. (2016) // Zemdirbyste-Agriculture 103: 363-368, doi: 10.13080/z-a.2016.103.046
3. Hayashi Y. (2016) / HUSCAP, Hokkaido. 2016, doi: 10.14943/doctoral.k12254
4. Hernandez-Restrepo M., Groenewald J.Z., Crous P.W. (2016) // Persoonia, 36: 57-82, doi: 10.3767/003158516X688676
5. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Орина А.С. (2017) // Защита и карантин растений, 5: 9-12
6. Abdelhalim M., Brurberg M.B., Hofgaard I.S., Rognli O.A., Tronsmo A.M. (2020) // Eur J Plant Pathol, doi: 10.1007/s10658-020-01939-5
7. Ткаченко О.Б. (2017) Снежные плесени (история изучения, возбудители, их биологические особенности) / Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН. Москва, 72 с. ISBN 978-5-906906-24-3
8. Горьковенко В.С., Оберюхтина Л.А., Куркина Е.А. (2009) // Защита и карантин растений, 1: 34-35
9. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Орина А.С., Аблова И.Б., Беспалова Л.А. (2018) // Биотехнология и селекция растений, 1(1): 7-15, doi: 10.30901/2658-6266-2018-1-7-15
10. Gagkaeva T.Yu., Orina A.S., Gavrilo O.P., Gogina N.N. (2020) // Microorganisms, 2020, 8, 340, doi:10.3390/microorganisms8030340
11. Hofgaard I.S., Wanner L.A., Hageskal G., Henriksen B., Klemsdal S.S., Tronsmo A.M. (2006) // J of Phytopathology, 154 (5): 267-274, doi: 10.1111/j.1439-0434.2006.01092.x
12. Rothen C., Miranda V., Fracchia S., Godeas A., Rodriguez A. (2018) // Boletin de la Sociedad Argentina de Botanica. 53(2): 169-182

ПОИСК ГЕНОВ, ДЕЛЕЦИЯ КОТОРЫХ ВЛИЯЕТ НА КЛОНАЛЬНУЮ ЭКСПАНСИЮ ЭГОИСТИЧНЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДНК В КЛЕТКАХ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ

Кашко Н.Д.¹, Кнорре Д.А.^{1,2}

¹Факультет биоинженерии и биоинформатики
Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова

²Институт Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского
Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова

В каждой эукариотической клетке содержится множество копий митохондриальной ДНК (мтДНК), необходимых для нормального функционирования митохондрий. Вследствие возникновения спонтанных мутаций, чаще всего выражающихся в делеции обширного участка последовательности мтДНК, в клетке могут появляться “нефункциональные” копии мтДНК [1]. Под “нефункциональной” мтДНК мы подразумеваем такой вариант мтДНК, в котором нет полного набора информации, необходимой для синтеза белков дыхательной цепи и АТФ-синтазы. Состояние, при котором в клетках присутствует одновременно несколько вариантов мтДНК, принято называть гетероплазмией. Это состояние может быть достаточно опасным для организма, так как мутантные варианты мтДНК, как правило, способны к распространению внутри клетки и среди ее потомства, что может привести к “заражению” мутантным вариантом всей популяции [2]. Однако механизмы, по которым может происходить такая клональная экспансия нефункционального варианта мтДНК, впоследствии закрепляющегося в потомстве поврежденной клетки, до конца не ясны.

Пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются удобным объектом для изучения механизмов распространения мутантных вариантов мтДНК, так

как дрожжи относятся к факультативно анаэробным микроорганизмам. В дрожжах конкурентное преимущество мутантного варианта мтДНК перед мтДНК дикого типа принято выражать через супрессивность — долю потомков от скрещивания штамма дрожжей с мтДНК дикого типа со штаммом, несущим мутантный вариант мтДНК, в которых сохраняется только мутантный вариант мтДНК. Чем выше супрессивность варианта мтДНК, тем более эгоистичен данный вариант и в тем большей части потомков от скрещивания он окажется [3].

Согласно одной из гипотез, конкурентному преимуществу нефункциональных вариантов мтДНК может способствовать различная скорость репликации мутантных мтДНК и мтДНК дикого типа. Действительно, короткие молекулы ДНК реплицируются быстрее, поэтому более короткая мутантная мтДНК может быть представлена в клетке большим количеством копий, чем мтДНК дикого типа [4]. Тогда при делении в дочернюю клетку с большей вероятностью попадет именно нефункциональный вариант мтДНК. Другим фактором может быть низкая эффективность отбора против нефункциональных молекул мтДНК на внутриклеточном уровне, связанная с подавлением систем контроля качества митохондрий или с нарушением митохондри-

альной динамики. К примеру, показано, что активация систем контроля качества митохондрий в зиготе при слиянии клеток дрожжей, несущих разные варианты мтДНК, способствует устранению нефункциональной мтДНК [5].

В нашей работе мы решили проверить обе указанные гипотезы, а также провести ряд генетических скринингов имеющихся коллекций штаммов дрожжей для систематического выявления клеточных процессов, задействованных в защите от распространения эгоистичных молекул мтДНК. Был получен набор штаммов с различными мутациями в мтДНК, проявляющими разный уровень супрессивности, для которого последовательность мтДНК была определена методом высокопроизводительного секвенирования. В этом наборе штаммов было определено количество копий мтДНК на клетку с использованием ПЦР в реальном времени. По нашим данным, уровень супрессивности положительно коррелирует с количеством копий мтДНК на клетку и отрицательно коррелирует с длиной сохранившегося участка мтДНК и с частотой потери мтДНК в присутствии ДНК-интеркалирующего агента бромистого этидия. Таким образом, наши данные согласуются с описанной гипотезой, то есть, эгоистичность мтДНК в некоторой степени объясняется повышенной вероятностью наследования мутантного варианта мтДНК при случайном распределении молекул мтДНК при сегрегации митохондрий во время клеточного деления.

Для выявления других факторов, влияющих на наследование нефункциональных вариантов мтДНК, был произведен генетический скрининг коллекции штаммов дрожжей с пониженной экспрессией жизненно необходимых генов (DAmP). В ходе скрининга мы выявили гены, снижение экспрессии которых способствовало уменьшению супрессивности одного из штаммов. Среди обнаруженных генов большой интерес представляют *SEC1*, *TIM50* и *TOM22*. Продукты генов *TOM22* и *TIM50* входят в состав комплексов, обеспе-

чивающих импорт белков в митохондрии через наружную и внутреннюю мембраны митохондрий, соответственно, и нарушение работы этих комплексов может значительно изменить белковый состав митохондрий. Это, в свою очередь, может снижать эффективность репликации мтДНК, затруднять слияние митохондрий или приводить к активации систем митофагии вследствие изменения соотношения митохондриальных белков. Продукт гена *SEC1* участвует в экзоцитозе и может влиять на сегрегацию митохондрий при клеточном делении за счет изменения липидного состава клеточных мембран.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-00782

Список литературы

1. G. Bernardi, "Lessons from a small, dispensable genome: the mitochondrial genome of yeast," *Gene*, vol. 354, pp. 189–200, Jul. 2005.
2. H. A. Collier, N. D. Bodyak, and K. Khrapko, "Frequent intracellular clonal expansions of somatic mtDNA mutations: significance and mechanisms," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 959, pp. 434–447, Apr. 2002.
3. D. Williamson, "The curious history of yeast mitochondrial DNA," *Nat. Rev. Genet.*, vol. 3, no. 6, pp. 475–481, Jun. 2002.
4. F. Diaz, M. P. Bayona-Bafaluy, M. Rana, M. Mora, H. Hao, and C. T. Moraes, "Human mitochondrial DNA with large deletions repopulates organelles faster than full-length genomes under relaxed copy number control," *Nucleic Acids Res.*, vol. 30, no. 21, pp. 4626–4633, Nov. 2002.
5. I. E. Karavaeva, S. A. Golyshev, E. A. Smirnova, S. S. Sokolov, F. F. Severin, and D. A. Knorre, "Mitochondrial depolarization in yeast zygotes inhibits clonal expansion of selfish mtDNA," *J. Cell Sci.*, vol. 130, no. 7, pp. 1274–1284, 01 2017.

МЕЛАНИН PHIALOSERPHALA FORTINII И ЕГО ОБРАЗОВАНИЕ ГРИБОМ В МОНОКУЛЬТУРЕ

Е.М. Кораблева, И.В. Стручкова

ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Грибы, из-за меланизированных гиф относимые к темным септированным эндофитам, способны существовать внутри тканей корня у растений семейства *Ericaceae* без проявления признаков заболевания у хозяина, а в ряде случаев – даже стимулируя его развитие (Tellenbach et al., 2013). Одним из видов таких эндофитов, часто обнаруживаемым в корнях вересковых растений, является *Phialocephala fortinii* (Wang, Wilcox). Известно, что грибной меланин обладает антиоксидантной активностью, защищает от ряда других негативных факторов физической и химической природы (Suwannarach et al., 2019). Предполагается, что он также способен увеличить резистентность гриба-эндофита к механизмам защиты хозяина при проникновении в растение и в процессе выживания внутри него (Zhan et al., 2011). Для дальнейшего изучения этого вопроса

необходима информация о строении и путях синтеза меланина эндофитными грибами. Для синтеза грибного меланина возможны два пути: через L-дигидрокси-фенилаланин (L-DOPA-путь) или 1,8-дигидрокси-фталлин (DHN-путь) (Гесслер и др., 2014). Какой из этих путей реализуется у *P. fortinii*, насколько интенсивно происходит меланиногенез и какими структурными характеристиками обладает синтезируемый меланин – остается не изученным. В связи с этим целью нашего исследования являлось определить путь синтеза меланина, интенсивность меланиногенеза и структурные особенности этого соединения у двух различающихся по фенотипу изолятов *P. fortinii*, выделенных на территории Нижегородской области.

Два изолята *P. fortinii* были выделены из корней растений клюквы крупноплодной (*Oxycoccus macrocarpus*

(Ait.) Pers.). Участки самых тонких корней поверхностно стерилизовали, нарезали по 0,5 см и выкладывали на твердую питательную среду Чапека – Докса. В дальнейшем разделяли развившиеся колонии на отдельные изоляты. Изолят КБ-1 – “быстрорастущий”, с поздней меланизацией и КБ-2 – “медленнорастущий”, с ранней меланизацией, отобрали для дальнейших исследований. Их видовую принадлежность определяли с использованием GenBank (BLAST) на основе первичных данных о характерных ДНК-последовательностях, предоставленных ЦКП «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИСБ (г. Москва).

Изоляты выращивали в течение 14, 21, 28 дней на жидкой среде Чапека при 18±2°C. Мицелий высушивали до постоянного веса и автоклавировали при 121°C в 1М NaOH, затем среду закисляли до pH 2.0. Хлопьевидный осадок меланина отмывали, высушивали и взвешивали (Fernandes et al., 2016). ИК-спектры регистрировали на ИК-спектрометре с Фурье-преобразователем IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония). О наличии или отсутствии DHN-пути синтеза меланина *P. fortinii* судили по изменению окраски колоний, выращиваемых в присутствии фталида (1(3H)-изобензофуранона) на среде Чапека - Докса с его итоговой концентрацией 50 и 100 мкг/мл.

В присутствии фталида, избирательно ингибирующего только DHN-путь синтеза меланина у грибов, оба изолята формировали колонии более светлой окраски, чем контрольные. Это указывает на наличие у *P. fortinii* DHN-пути синтеза меланина. Результаты ИК-спектрометрии показали, что в составе меланина содержатся -OH (3439 и 3347 см⁻¹) и -NH (2117 см⁻¹) группы, -C=O в составе кислот, сложных эфиров и кетонов (1708 см⁻¹), конденсированных бензольных колец (1514 см⁻¹), аминных и амидных групп (1400-1470 см⁻¹) и -CH₂-фрагменты (800-990 см⁻¹). Данные структурные особенности и ранее обнаруживались у грибных меланинов, синтезируемых через DHN-путь (Bárcena et al.,

2018). Максимальный выход меланина для изолятов наблюдался: для КБ-1 - на 21 сутки роста, для КБ-2 - на 28 сутки и составил 149 и 22 мг/г сухой массы мицелия соответственно.

Таким образом, в условиях монокультуры исследованные изоляты *P. fortinii* синтезируют меланин через DHN-путь, но интенсивность и динамика меланинообразования зависит от изолята.

Список литературы

1. Гесслер Н. Н., Егорова А. С., Белозерская Т. А. Меланиновые пигменты грибов в экстремальных условиях существования// Прикладная биохимия и микробиология. 2014. Т. 50. № 2. с. 125–134.
2. Fernandes Ch., Prados-Rosales R., Silva B. M. A. et al. Activation of melanin synthesis in *Alternaria infectoria* by antifungal drugs// Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016. V. 60. № 3. p. 1646-1655.
3. Suwannarach N., Kumla J., Watanabe B., Matsui K., Lumyong S. Characterization of melanin and optimal conditions for pigment production by an endophytic fungus, *Spissiomycetes endophytica* SDBR-CMU319// PloS ONE. 2019. V. 14. № 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222187>.
4. Tellenbach Ch., Sumaran M. W., Grunig Ch. R., Miller J. D. Inhibition of *Phytophthora* species by secondary metabolites produced by the dark septate endophyte *Phialocephala europaea*// Fungal ecology. 2013. V. 6. p. 12-18.
5. Zhan F., He Y., Zu Y., Li T., Zhao Zh. Characterization of melanin isolated from a dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*// World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2011. V.27. p. 2483–2488.
6. Bárcena A., Bruno M., Gennaro A. et al. Melanins from two selected isolates of *Pseudocercospora griseola* grown in-vitro: Chemical features and redox activity// Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. V. 186. 2018. p. 207-215.

ГРИБЫ-ПАТОГЕНЫ: РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ

Мамаев Д.В., Звягельская Р.А

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

Митохондрии большинства грибов, в дополнение к канонической цитохромоксидазе дыхательной цепи, ингибируемой цианидом, содержат нечувствительную к действию цианида терминальную оксидазу, названную альтернативной оксидазой (АО). АО – это кодируемый ядерным геномом интегральный белок внутренней митохондриальной мембраны с мол. массой 32-36 кДа, локализованный на внутренней стороне внутренней митохондриальной мембраны и катализирующий четырехэлектронное окисление убихинола (восстановленной формы убихинона) кислородом до воды. Перенос электронов через АО не сопряжен с синтезом АТФ и запасанием энергии и энергия окисления убихинола кислородом выделяется в виде тепла [1]. С помощью АО поддерживается фосфорилирующая активность клетки за счет совместного функционирования

1-го пункта сопряжения основной дыхательной цепи (ОДЦ) и субстратного фосфорилирования, а также высокая окислительная активность, необходимая для поддержания биосинтетических процессов, протекающих в митохондриях [1]. В нашей лаборатории была получена трехмерная структура АО дрожжей и высказано предположение о том, что такую структуру могут иметь и другие грибные АО [1]. АО найдена у ряда патогенных грибов: в фитопатогенных грибах *Sclerotinia sclerotiorum* и *Septoria tritici*, патогенном для насекомых грибе *Metarhizium anisopliae*, патогенных для человека дрожжах *Candida albicans* и *C. neoformans*, термальном диморфном патогенном грибе человека *Paracoccidioides brasiliensis*, спорах относящегося к грибам внутриклеточного паразита *Antonospora (Paranosema) locustae*, в полубиотрофном грибе-патогена *Moniliophthora*

perniciosa, вызывающего болезнь какао-деревьев и эндемическом патогене диморфном грибе *Histoplasma capsulatum* [1]. Патогены приобрели способность экспрессировать АО в клетках хозяина, при этом АО выполняет важную роль в их выживании.

АО грибов ингибируется салицилгидроксамовыми кислотами (СГК) [1], а также октилгаллатом [2, 3] и п-пропилгаллатом [4]. Недавно синтезирован новый ингибитор АО *Moniliophthora perniciosa* – производное N-фенилбензамида – N-фенилбензамид 7j-41, существенно превышающий по своей эффективности СГК [5]. У *M. perniciosa* он подавляет спорообразование и предотвращает появление симптомов болезни Брума у инфицированных им растений какао [5], приводящей иногда к потерям 50-90% урожая какао в Латинской Америке [6]. Дополнительным механизмом резистентности, связанной с АО патогена, является противодействие «антигрибковому» окислительному стрессу (ОС), генерированному ОДЦ митохондрий *Theobroma cacao* [7]. Приведенный пример свидетельствует об экономической значимости исследований АО.

Отдельно необходимо сказать о существенной роли АО в патогенезе грибов, используемых в качестве биоинсектицидов. Так *Nomuraea rileyi* поражает личинки совки *Spodoptera litura*, паразитирующей на табаке и хлопке [8], а *Metarhizium anisopliae* способен селективно уничтожить до 70-90% обработанной саранчи за 14 - 20 дней [9].

Роль АО в патогенезе доказана у 10-ти грибковых патогенов культурных растений и у 12-ти грибковых патогенов животных и человека. В дополнение к вышеперечисленным, для растений - это возбудитель пирикулярноза риса – *Magnaporthe orisea*, возбудитель септориоза пшеницы – *Septoria tritici blotch*, возбудитель пузырчатой головни кукурузы – *Ustilago maydis*, возбудитель гнили моркови, ананаса и манго – *Rhizopus oryzae*, возбудитель парши яблонь – *Venturia inaequalis*, возбудитель серой гнили многих растений – *Botrytis cinerea*, возбудитель белой гнили подсолнечника – *Sclerotinia sclerotiorum*, возбудитель бурой гнили плодовых культур – *Monilinia fructicola* и возбудитель парши груши *Venturia pirina* [10]. Для человека – это возбудитель паракокцидиомикоза – *Paracoccidioides brasiliensis*, возбудители молочницы слизистых разных органов – *C. albicans* и *C. krusei*, возбудители аспергиллезов у пациентов с ослабленным иммунитетом – *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus* и *A. flavus*, возбудитель криптококкового менингита – *Cryptococcus neoformans*, возбудитель гистоплазмоза – *Histoplasma capsulatum* и возбудитель мукоромикоза у лиц с ослабленным иммунитетом – *Rhizopus oryzae* [10].

На грибок *A. nidulans* наиболее полно исследован эффект делеции по гену, кодирующему АО [11]. При этом мутантный патоген в значительной мере теряет вирулентность из-за неспособности уменьшать концентрацию активных форм кислорода (АФК), поскольку у грибка подавлена способность к индукции глутатион пероксидазы и глутатион редуктазы, которые подавляют ОС [11]. У мутантного патогена изменяется морфология и размер гифов, а также уменьшается количество клейстотеций, конидий и конидиоспор, что, по-видимому, уменьшает выживаемость патогена за «пределами» хозяина [11]. Делеция или сверхпродукция АО у

A. nidulans, соответственно, существенно снижает или повышает продукцию стеригматоцистина (одного из поражающих элементов патогена) в темноте [12]. Таким образом, АО взаимодействует с другими факторами патогенеза, повышая степень вирулентности. Наиболее полно взаимодействие ингибиторов АО и ОДЦ грибка изучено для *C. albicans*. Метаболическая активность продуктов генов патогена, ответственных за адгезию, была существенно ниже в присутствии ингибиторов АО и увеличивалась в присутствии ингибиторов ОДЦ. Оба изофермента АО (АОХ1 и АОХ2) промотируют формирование биопленок [13] и это повышает ВИР. В присутствии ингибиторов АО снижается чувствительность *C. albicans* к флуконазолу [14], вориконазолу, амфотерицину Б и 5-фторцитозину [15], причем эти лекарства имеют совершенно различные мишени воздействия в клетке патогена. Совместная предобработка *C. albicans* СГК и нитропруссидом (донором окиси азота) приводит к реорганизации клеточной стенки, активации роста гифов, и, в конечном счете, увеличивает степени вирулентности [16]. Таким образом, борьба с инфекцией воздействием на АО, вероятно, должно не исключать, а лишь дополнять применение традиционных препаратов – ингибиторов ОДЦ.

Для обоснования роли АО в патогенезе используют несколько методических подходов [10], исследуют:

1. увеличение уровня АО инфицирующего агента при патогенезе и (если такая форма есть) влияние на выживаемость (рост и размножение) вне организма хозяина;
2. корреляцию этого уровня и активности ферментов, способствующих детоксикации АФК;
3. корреляцию уровня АО (делеция или сверхэкспрессия кодирующего АО гена) с вирулентностью патогена, а также влияние этого на резистентность к фунгицидам, подавляющим ОДЦ митохондрий;
4. корреляцию подавления АО ее специфическими ингибиторами (обычно СГК) и снижения вирулентности патогена, а также влияние этого на резистентность к фунгицидам, подавляющим ОДЦ митохондрий;
5. корреляцию выживаемости патогена с делецией или сверхэкспрессией гена, кодирующего АО, и в присутствии специфических ингибиторов АО;
6. корреляцию уровня АФК под действием различных эффекторов у штаммов патогена с делецией по гену, кодирующему АО;
7. последствия гетерологической экспрессии гена АО в другом, достаточно отдаленном систематически организме, для выделения антиоксидантной роли АО от других факторов вирулентности патогена;
8. индукцию АО и регуляцию этой индукции.

Однако большая часть программы исследований была осуществлена только для 9 патогенов (*C. albicans*, *C. neoformans*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *P. brasiliensis*, *H. capsulatum*) из упомянутых 22-х. Кроме того, совершенно не исследована потенциальная роль АО в патогенезе у таких возбудителей, как *C. tropicalis*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compacta*, *F. dermatitidis*, *Phialophora verrucosa*, *Cladosporium carrionii*, *Rhinochdiella aquaspersa*, *Exophiala jeanselmei*, *Exophiala jeanselmeni*, *Wangiella dermatitidis*, *Lacazia loboi* и *Rhinosporidium seeberi* – возбудителей микозов у па-

циентов с пониженным иммунитетом. Таким образом, для исследований роли АО в грибковых заболеваниях открывается широкое поле деятельности.

Работа частично поддержана Программой РАН "Постгеномные технологии и перспективные решения в биомедицине", АААА-А18-1180215017-0.

Список литературы:

1. Rogov, A. G., Sukhanova, E. I., Uralskaya L. A., et al. 2014. *Biochemistry (Moscow)*. 79(13), 1615-1634.
2. Affourtit, C., Heaney, S.P., Moore, A.L. 2000. *Biochim. Biophys. Acta* 1459(2-3), 291-298.
3. Kim, J.H., Mahoney, N., Chan, K.L., et al. 2014. *Front. Microbiol.* 5(3), 87-99.
4. Inoue, K., Tsurumi, T., Ishii, H., et al. 2012. *FEMS Microbiol. Lett.* 326(1), 83-90.
5. Barsottini, M.R., Pires, B.A., Vieira, M.L., et al. 2019. *Pest. Manag. Sci.* 75(5), 1295-1303.
6. Meinhardt, L.W., Rincones, J., Bailey, B.A., et al. 2008. *Mol. Plant Pathol.* 9(5), 577-588.
7. Moretti-Almeida, G., Thomazella, D.P.T., Pereira, G.A.G., et al. 2019. *Fungal Genet. Biol.* 126(3), 50-55.
8. Zhou, G., Song, Z., Yin, Y., et al. 2015. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 31(9), 1343-1352.
9. Lomer, C.J., Bateman, R.P., Johnson, D.L., et al. 2001. *Annu. Rev. Entomol.* 46, 667-702.
10. Mamaev and Zvyagislkaya, 2020 in press.
11. Leiter, É., Park, H.S., Kwon, N.J., et al. 2016. *Sci. Rep.* 6(2), 20523-20548.
12. Molnár, Á.P., Németh, Z., Fekete, E., et al. 2018. *Toxins (Basel)*. 10(4), E168.
13. Wang, T.M., Xie, X.H., Li, K., et al. 2018. *Curr. Med. Sci.* 38(3), 443-448.
14. Yan, L., Li, M., Cao, Y., et al. 2009. *J. Antimicrob. Chemother.* 64(4), 764-773.
15. Fekete, A., Pócsi, I., Emri, T., et al. 2008. *J. Basic. Microbiol.* 48(6), 480-487.
16. Duvenage, L., Walker, L.A., Bojarczuk, A., et al. 2019. *MBio.* 10(1), e02535-18.

МЕМБРАННАЯ БИОЭНЕРГЕТИКА И САМООРГАНИЗАЦИЯ НА ПЕРЕДНЕМ КОНЦЕ РАСТУЩЕЙ ГИФЫ *NEUROSPORA CRASSA*

Т.В. Потапова

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

В последние годы активно развиваются представления о том, что морфологию и поведение клеток и организмов определяет их «архитектором»: взаимосогласованная система внутриклеточных структурных элементов, находящаяся под управлением биоэлектрических полей и сигналов [1; 2]. К сожалению, при этом рассматривают в основном сигнальные функции мембранного транспорта и его роль в регуляции ионного состава цитоплазмы, практически оставляя в стороне энергетический смысл мембранного электрогенеза и электрической связи через проницаемые межклеточные контакты (ПМК), которая создает в различных многоклеточных системах, эволюционно далеко отстоящих друг от друга, возможность энергетической кооперации между клетками, а именно: разделения труда по генерации разности потенциалов через плазматическую мембрану (V_m) одними клетками и использованием мощности V_m соседними клетками [3]. Изучение энергетической кооперации в гифе *Neurospora crassa* приводит к выводу о возможности самоорганизации внутриклеточных структур на верхушке растущей гифы под влиянием продольных электрических полей, которые создаются неоднородным распределением в этой зоне генераторов и потребителей энергии V_m [4, 5].

В клетках *N. crassa* H⁺-АТФаза плазматических мембран работает как генератор электрического тока, который создает и поддерживает высокую трансмембранную разность потенциалов (в среднем $V_m = -180$ мВ) [6]. Другие внутримембранные белки – вторичные транспортеры используют энергию движения протонов внутрь клетки по их электрохимическому градиенту

для транспорта в клетку против градиента концентраций молекул субстратов (аминокислоты, сахара, нуклеотида) или ионов (калия, фосфата и др.). При высокой концентрации транспортеров и высокой скорости оборота каждой такой молекулы их суммарная активность создает электрический ток, по направлению обратный насосному и сопоставимый с ним по величине.

Максимальные насосные токи *N. crassa* (18,6-25 микроА/см²) сравнимы по величине с трансэпителиальными токами. Это свидетельствует о большой роли электрогенных насосов в бюджете клетки. Например, по оценке [7], при $V_m = -175$ мВ и насосном токе 14-19 микроА/см² при стехиометрии 1H⁺:1АТФ насосом должно потребляться 38-52% суммарной продукции АТФ.

Гифа *N. crassa* разделена на сегменты длиной 50—100 мкм септами, так что через пору в центре каждой септы двигается вдоль гифы поток вещества и органелл и обеспечивается электрическая связь с такими же кабельными характеристиками, как у щелевых контактов между животными клетками [8]. Экспериментально показано, что H⁺-АТФ-азы встраиваются в плазматические мембраны *N. crassa* не ближе ~120 мкм от точки роста [9] и верхушечные сегменты нейроспоры поддерживают высокие значения V_m только при наличии электрической связи с более взрослыми участками гифы. При этом межклеточный ток в гифальной верхушке практически равен обычному насосному току [10 - 12].

На верхушке растущей гифы *N. crassa* строго упорядочено расположение внутриклеточных органелл [5]: w•Непосредственно на переднем конце располагается

Spitzenkorper, или центр распределения везикул (который состоит из везикул, рибосом, актиновых волокон и аморфного материала неизвестной природы).

• На переднем участке длиной ~20–30 мкм обнаруживаются скопления нитевидных митохондрий.

• На расстоянии ~20–30 мкм от точки роста отсутствуют ядра («зона, свободная от ядер»).

• Первая септальная перегородка образуется не ближе ~150 мкм от точки роста взрослой гифы.

При этом известно, что на переднем участке длиной 100–150 мкм принципиально меняется характер движения микротрубочек: они уже перемещаются не потоком цитоплазмы как палочки длиной 10 мкм, а путем сборки–разборки, расходуя на каждый шаг энергию 1 молекулы АТФ, формируя на растущей верхушке сеть из длинных нитей, ориентированных вдоль оси гифы [13, 14]. То же самое — митохондрии, которые переносятся вдоль гифы током цитоплазмы как зерна диаметром 1 мкм, однако, на переднем конце гифы формируют нитевидные скопления, перемещающиеся вперед по мере удлинения гифы [4, 15]. В гифах *N. crassa* митохондрии способны двигаться вдоль микротрубочек, имея необходимый для такого взаимодействия набор молекулярно-генетических деталей [14].

Анализ электрической гетерогенности переднего конца гифы позволяет предположить, что существующее здесь продольное электрическое поле может играть важную роль в создании и поддержании упорядоченного ансамбля микротрубочек и митохондрий, обеспечивающего верхушечный рост.

По нашим измерениям с помощью внутриклеточных микроэлектродов [10; 11] на расстоянии 100 мкм (L1) от переднего конца гиф *N. crassa* V_m равен ~ -130 мВ (V_{m1}), а на расстоянии 400 мкм (L2) ~ -160 мВ (V_{m2}). Исходя из этих величин, можно оценить напряженность электрического поля (E) вдоль переднего конца гифы:

$$E = (V_{m2} - V_{m1}) / (L_2 - L_1) = 30 \text{ мВ} / 300 \text{ мкм} = 100 \text{ В/м.}$$

Известно, что (см. обзор [5]) изолированные микротрубочки в растворе ориентируются и меняют скорость движения под влиянием электрического поля напряженностью 2×10^3 В/м. Не исключено, что в условиях живой клетки электрическое поле на порядок меньшей величины может оказать существенное регуляторное воздействие на ориентацию, расположение и скорость движения согласованного ансамбля микротрубочек и митохондрий.

Электрическая гетерогенность между клетками в наши дни становится объектом все более пристального внимания при анализе закономерностей роста и развития многоклеточных систем [16 - 20]. Успеху в этой области может способствовать использование представлений мембранной биоэнергетики о механизмах управления самоорганизацией внутриклеточных структур при верхушечном росте *N. crassa*. Наиболее актуальным на сегодняшний день кажется выяснение молекулярно-генетических и клеточных механизмов, ограничивающих встраивание H⁺-АТФ-аз в плазматическую мембрану апикального сегмента растущей гифы.

Список литературы

1. Fields C., Levin M. (2017) Multiscale memory and bioelectric error correction in the cytoplasm-

cytoskeleton-membrane system // *WIREs Syst Biol Med* e1410. Doi: 10.1002/wsbm.1410;

2. McLaughlin KA, Levin M. (2018) Bioelectric signaling in regeneration: Mechanisms of ionic controls of growth and form // *Dev Biol.* 433:177-189. doi: 10.1016/j.ydbio.2017.08.032. Epub 2017 Dec 25.
3. Беркинблит М.Б., Божкова В.П., Бойцова Л.Ю. и др. (1981) *Высокопроницаемые контактные мембраны. - М.: "Наука"*.
4. Potapova, T. V. (2012) Cell-to-cell communication in the tip growth of mycelial fungi. In *Biocommunication of Fungi* (G. Witzani ed.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg: 103-114.
5. Потапова Т. В. (2014) Структурная и функциональная организация растущих верхушек *Neurospora crassa* // *Биохимия* 79: 753-769.
6. Slayman, C. L. (1987) **The plasma membrane ATPase of Neurospora: a proton-pumping electroenzyme**, *J. Bioenerget. Biomemb.*, 19, 1-20
7. Gradman D., Hansen U-P., Long W.S., Slayman C.L., Warncke J. (1978) Current-voltage relationships for the plasma membrane and its principal electrogenic pump in *Neurospora crassa* // *J. Membr. Biol.* 39: 333-367.
8. Чайлахян Л.М., Левина Н.Н., Белозерская Т.А., Потапова Т.В. (1984). Изучение межклеточных взаимодействий у мицелиального гриба *Neurospora crassa* в связи с фотоэлектрическими изменениями в мембранах // *Биол. Мембр.* 1: 44—55.
9. Fajardo-Somera R.A., Bowman B., Riquelme M. (2013) The plasma membrane proton pump PMA-1 is incorporated into distal parts of the hyphae independently of the Spitzenkorper in *Neurospora crassa* // *Eukaryotic Cell.* 12: 1097—1105.
10. Potapova T.V., Aslanidi K.B., Belozerskaya T.A., Levina N.N. (1988) Transcellular ionic currents studied by intracellular potential recordings in *Neurospora crassa* hyphae. (Transfer of energy from proximal to apical cells) // *FEBS Lett.* 241: 173-176.
11. Потапова Т. В., Бойцова Л. Ю. (1997) Структура, функция, управление. Возможности экспериментального анализа в группах невозбудимых клеток, связанных проницаемыми контактами // *Биол. Мембр.* 14: 661-670.
12. Асланиди К. Б., Асланиди О. В., Вачадзе Д. М. И др. (1997) Математическая модель электрических явлений при поляризованном росте гифы *N. crassa* // *Биофизика* 42: 941-951.
13. Sugden K.E.P., Evans M.R., Poon W.C.K., Read N.D. (2007) Model of hyphal tip growth involving microtubule-based transport // *Phys. Rev. E Stat. Nonlin Soft Matter Phys.* 75: 031909.
14. Riquelme M., Yarden O., Bartnicki-Garcia S. et al., (2011) Architecture and development of the *neurospora crassa* hy[ha — a model cell for polarized growth // *Fungal Biology* 115: 446 — 474. doi:10.1016/j.funbio.2011.02.008
15. Потапова Т. В., Бойцова Л. Ю., Гольшев С. А., Попинако А. В. (2013) Организация митохондрий в растущих гифах *Neurospora crassa*. *Цитология* 55: 828-836.
16. Harold F. M. (2005) Molecules into cells: specifying spatial architecture // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69: 544-564. Doi: 10.1128/MMBR.69.4.544-564.

17. Blackiston D.J., McLaughlin K.A., Levin M. (2009) Bioelectric controls of cell proliferation: ion channels, membrane voltage and the cell cycle // *Cell Cycle* 821: 3527 — 3536
18. Cervera J., Manzanares J.A., Mafe S. (2018) Cell-cell bioelectrical interactions and local heterogeneities in genetic networks: a model for stabilization of single-cell states and multicellular oscillations // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 20: 9343 - 9354 DOI: 10.1039/C8CP00648B;
19. Michard E., Simon A.A., Tavares B., Wudick M.M., Feijo J.A. (2017). Signalling with ions: the keystone for apical cell growth and morphogenesis in pollen tubes // *Plant Physiology* 173: 91 — 111. [www.plantphysiology.org/cgi/doi/10.1104/pp.16.01561;
20. Pelce P. (2018) Competition of energy between active transport and vesicle fusion at the origin of intracellular gradient fields // *J. Theor. Biol.* 438: 165-173

СТРУКТУРА МИТОХОНДРИЙ ДРОЖЖЕЙ ПРИ ИНДУКЦИИ И ПОДАВЛЕНИИ МИТОФАГИИ

Рогов, А.Г., Голева, Т.Н., Мамаев, Д.В., Звягильская, Р.А.

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

Митохондрии, помимо общеизвестной роли в энергообеспечении, выполняют и другие ключевые функции в клетке. Они прочно интегрированы в общий клеточный обмен, играют основную роль в таких глобальных процессах, как проведение клеточных сигналов, поддержание Ca^{2+} -гомеостаза, пролиферация, воспаление, иммунный ответ, генерация активных форм кислорода, регуляция апоптоза (одной из форм запрограммированной гибели клетки) [1-3]. Поскольку дисфункция митохондрий связана со старением и многочисленными патологиями [2], качество и количество митохондрий должны тщательно отслеживаться клеткой. Этой цели служит, наряду с другими процессами, митофагия (от греч. *μίτος* – нить и *φαγῆν* – есть, поедать), сложный, многоступенчатый, упорядоченный, консервативный у всех эукариот катаболический процесс, направленный на удаление функционально неполноценных или избыточных (т.е. не необходимых для поддержания клеточного гомеостаза) митохондрий. Коротко процесс митофагии может быть описан следующим образом. Вокруг митохондрий, подлежащих уничтожению, образуется двойная изолирующая мембрана (фагофор), которая увеличивается в размерах путем добавления вновь синтезированных белков и липидов, формируя в результате замкнутую структуру, называемую митофагосомой, содержащую внутри удаляемые митохондрии. Затем внешняя мембрана митофагосомы сливается с вакуолярной (в дрожжах) или лизосомальной (в клетках млекопитающих) мембраной, а оставшаяся одномембранная структура попадает внутрь вакуоли или лизосомы, где происходит ее деградация до мономеров с участием литических ферментов с последующим использованием образовавшихся мономеров для синтеза митохондрий *de novo* [1]. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются удобной моделью для изучения молекулярных механизмов митофагии благодаря хорошей изученности генома, трансскриптома и протеома, относительной простоте генетических манипуляций, содержанию многочисленных белков-ортологов человека [1]. Селективный путь деградации митохондрий в дрожжах требует обязательного взаимодействия нескольких белков: рецептора Atg32, заякоренного на внешней мембране митохондрий, цитоплазматического адаптера Atg11, белка Atg8, образу-

ющего конъюгат с фосфатидилэтаноламином мембран митофагосомы и поэтому рассматриваемый как маркер биогенеза и перемещения митофагосомы [4], и ряда белков, в том числе, Atg1 и Atg5, вовлеченных в процесс митофагии на ранних стадиях, причем Atg5 необходим для развития и поддержания гомеостаза [5].

Процесс митофагии, направленный на удаление поврежденных органелл является важным, но не единственным механизмом, ответственным за контроль качества и количества этих органелл. Митохондрии эукариот являются динамичными образованиями, постоянно меняющими форму и размеры, подвергаясь двум прямо противоположным процессам – делению и слиянию, вместе составляющими так называемую митохондриальную динамику. Митохондриальная динамика, как полагают, играет важную роль в сохранении функционально полноценных митохондрий, поскольку позволяет обмениваться ДНК и белками и сегрегировать неполноценные митохондрии для последующего их удаления в процессе митофагии [2,6]. Нарушение митохондриальной динамики, в частности, избыточное деление (фрагментация) митохондрий сопровождается многочисленными патологиями [2]. В дрожжах *S. cerevisiae* слияние и деление регулируются динамин-подобными ГТФазами, Fzo1 и Dnm1, соответственно. Dnm1 образует комплекс с белками Fis1, Mdv1 и Caf4 на внешней митохондриальной мембране, промотируя фрагментацию митохондрий [2,7].

За последние 20 лет исходная концепция о разобщенности органелл в цитоплазме претерпела существенные изменения. Стало понятно, что органеллы в клетке находятся в тесном контакте и могут непосредственно взаимодействовать друг с другом [8]. Одними из наиболее изученных являются контактные точки между эндоплазматическим ретикуломом (ЭР) и митохондриями в дрожжах *S. cerevisiae*, образующие так называемую ЭР-митохондрию стыковочную структуру (ER-mitochondria encounter structure, ERMES) [8], состоящую из четырех субъединиц: двух митохондриальных (Mdm10 и Mdm34), локализованную на ЭР субъединицу Mmm1 и растворимую субъединицу Mdm12. Предполагается, что ERMES участвует в транспорте фосфолипидов, из ЭПР в митохондрии и непосредственно участвует в построении аутофагосомы (мито-

фагосомы), хотя в последнее время выявились и другие его активности [8].

Целью работы было изучение митофагии в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* и ее взаимосвязи с окислительным стрессом и динамикой митохондрий. С этой целью была собрана коллекция мутантов дрожжей *S. cerevisiae* с одиночными делециями генов, кодирующих ключевые белки, участвующие в митофагии дрожжей. Показано, что клетки *S. cerevisiae* дикого типа и “окислительного типа обмена” (выращенные на галактозе) содержали большое количество хорошо структурированных митохондрий. Окислительный стресс, вызываемый прооксидантом трет-бутилгидроксипероксидом (t-BHP), индуцировал митофагию в этих клетках и фрагментацию митохондрий.

Для каждого из исследованных мутантов получены трехмерные модели митохондриальных систем клеток в норме и в присутствии прооксиданта, позволяющие количественно оценить объем митохондрий в клетке и судить об эффективности протекания процесса митофагии и влияния на него отдельных белков, задействованных в митофагии. Показано, что в условиях нормоксии три мутанта, лишенных Fis1, Dnm1 and Mdv1 белков, ответственных за фрагментацию (деление) митохондрий, сохраняли хорошо развитый митохондриальный ретикулум (митохондриальную сеть), причем в мутанте с делецией гена, кодирующего Fis1, количество митохондрий и степень их разветвленности превышала количество митохондрий в диком типе. В присутствии прооксиданта не происходило полной фрагментации митохондрий, однако их структура была измененной.

Штамм с делецией гена, кодирующего atg1 белок, специфического, локализованного на внешней митохондриальной мембране дрожжевого рецептора, в условиях нормоксии имел разветвленный ретикулум, в условиях окислительного стресса митохондриальная система была представлена фрагментированными митохондриями, т. е. делеция atg1 белка не влияла на динамику митохондрий. Мутанты с делециями генов, кодирующих белки atg1, atg8, atg11, участвующие на разных стадиях образования фагофора, в условиях нормоксии обладали митохондриальным ретикулумом, но, в отличие от контрольного варианта, митохондриальная сеть не подвергалась разрушению в присутствии прооксиданта. Штамм с делецией гена, кодирующего atg5, в норме имел плохо структурированные фрагментированные митохондрии.

Для выявления участия ЭПР в митофагии и структуре митохондрий использовали штаммы с одиночны-

ми делециями генов, кодирующих белки комплекса ERMES Mmm1, Mdm10 и Mdm34. Найдено, что мутант Δ Mdm10 имел многочисленные мелкие фрагментированные митохондрии даже в условиях нормоксии. Очевидно, система слияния митохондрий в данном мутанте была подавлена. В присутствии прооксиданта число таких митохондрий существенно уменьшилось, так что в клетке практически не оставалось функционирующих митохондрий. Мутант Δ Mmm1 в норме характеризовался наличием митохондриальной системы, сходной с контрольным штаммом. Под действием прооксиданта наблюдалась фрагментация митохондрий и уменьшение их числа, что свидетельствовало об индукции митофагии. Мутант Δ Mdm34 в норме имел один или несколько кластеров митохондрий, занимающих значительный объем внутри клетки, что свидетельствует о превалировании процесса слияния митохондрий над делением. При инкубации с прооксидантом размер кластеров уменьшался, что указывало на индукцию митофагии, однако общая морфология митохондрий сохранялась.

Таким образом, удалось впервые выявить исследовать структуру митохондрий дрожжей в норме, при индукции митофагии, вызванной окислительным стрессом, и в мутантах, лишенных белков, участвующих на разных стадиях митофагии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-04-00784).

Список литературы

1. Мамаев, Д.В., Звягильская, Р.А. (2019) Успехи биол. химии. 59:455-472.
2. Srinivasan, S., Guha, M., Kashina, A., Avadhani, N.G. (2017) Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg. 1858:602-614.
3. Banoth, B., Cassel, S.L. (2018) Transl. Res. 202:52-68.
4. Lystad, A.H., Simonsen, A. (2019) Cells. 8(9):E973.
5. Arakawa, S., Honda, S., Yamaguchi, H., Shimizu, S. (2017) Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 93(6):378-385.
6. Serasinghe, M.N., Chipuk, J.E. (2017) Handb. Exp. Pharmacol. 240:159-188.
7. Wang, I. H., Chen, H.Y., Wang, Y.H. et al., (2014) PLoS One. 9(8):e104345.
8. Eisenberg-Bord, M., Tsui, H.S., Antunes, D. et al. (2019) Contact (Thousand Oaks). 2:2515256418825409.

СОСТАВ ЛИПИДОВ СТАРЕЮЩЕГО МОДЕЛЬНОГО ГРИБА *PODOSPORA ANSERINA* В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОГРУЖЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Сеник С.В.¹, Шахова Н.В.¹, Кудрявцева О.А.²
 «Федеральный исследовательский центр
 «Фундаментальные основы биотехнологии»
 Российской академии наук», Москва

Podospora anserina – один из немногих видов грибов, дикие штаммы которого подвержены выраженному репликативному старению и смерти [1, 2]. Эффект старения *P. anserina* состоит в остановке роста вегетативного мицелия, которая происходит через достаточно строго фиксируемый отрезок времени после прорастания аскоспоры. В случае продолжительного непрерывного роста в условиях погруженного качалочного культивирования «синдром старения» по каким-то причинам не проявляется, в результате чего поддерживается комплекс признаков, характерный для молодого мицелия [3]. Цель данного исследования состояла в том, чтобы выяснить, как изменяется состав липидов в условиях длительного погруженного культивирования *P. anserina*.

Состав липидов *P. anserina* изучали в избранных временных точках многолетнего эволюционного эксперимента. Настоящий эксперимент был запущен в 2012 году и продолжается по сей день [4]. Из непрерывно растущих погруженных культур периодически производили высев изолятов на агаризованную среду для хранения и дальнейшего изучения. Исследование выполнено для двух независимых линий – А1 и В2. Контрольные штаммы дикого типа были взяты в физиологически различных состояниях – в состоянии молодости (ДТМ) и старения (ДТС). Комплекс морфо-физиологических особенностей мицелия, адаптированного к условиям эволюционного эксперимента, соответствует молодому состоянию.

Биомассу для анализа состава липидов получали следующим образом: блоки агара с поверхностно растущим мицелием пересаживали в колбы на стандартную

жидкую среду М2 [3], инкубировали на ротационной качалке (скорость вращения 150 об/мин) при температуре 27°C в течение 4 сут, после чего делали один дополнительный пассаж в свежую среду и наращивали в течение ещё 4 сут.

Липиды экстрагировали по методу В.В. Nichols [5] с модификациями [6]. Индивидуальные классы фосфо- и сфинголипидов анализировали с помощью двумерной ТСХ [7]. Метилловые эфиры ЖК получали в процессе гидролиза липидов в 2,5% серной кислоте в метаноле при 70°C в течение 2 ч [8]. Состав стеринных анализировали в виде триметилсилильных эфиров, получаемых при нагревании с BSTFA («Sigma», USA) в течение 15 мин при 100°C. Разделение и идентификацию стеринных и входящих в состав липидов жирных кислот производили методом ГЖХ-МС на хроматографе Agilent 6850 с МСД 5975С. Жирные кислоты анализировали на капиллярной колонке Supelco OmegaWax 250, для анализа стеринных использовали колонку HP5MS (Agilent).

Анализ липидов показал, что адаптация линии В2 к погруженной культуре сопровождалась увеличением содержания гликоцерамидов (ГлЦер) и уменьшением содержания кардиолипина (КЛ) (рис. 1). Однако в линии А1 подобных корреляций не обнаружено. В обеих линиях прослеживается тенденция к уменьшению содержания фосфатидной кислоты (ФК), которая рядом авторов рассматривается как маркер стресса [9]. ГлЦер входят в состав мембранных рафтов, и усиление их синтеза часто коррелирует с метаболически активным состоянием клетки и адаптацией к интенсивному полярному росту [6]. Стареющий штамм дикого типа

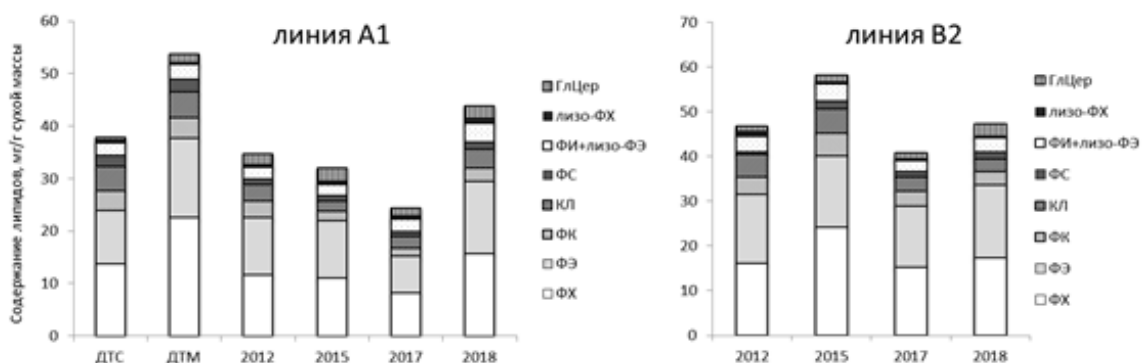


Рис. 1. Состав фосфо- и сфинголипидов *P. anserina*. ГлЦер – гликоцерамиды, ФХ – фосфатидилхолин, ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, КЛ – кардиолипин, ФК – фосфатидная кислота, ФЭ – фосфатидилэтаноламин. ДТС – стареющий контрольный штамм, ДТМ – молодой контрольный штамм. 2012, 2015, 2017, 2018 годы – даты отбора мицелий из длительно поддерживаемых экспериментальных линий.

(ДТС) характеризовался минимальным содержанием ГлЦер и повышенным уровнем ФК. Отличительной особенностью дикого варианта в обоих физиологических состояниях (молодой и старый) является повышенное содержание кардиолипина – липида, являющегося основным компонентом внутренней мембраны митохондрий и необходимого для функционирования ферментов энергетического обмена [10].

Состав жирных кислот фосфолипидов *P. anserina* существенно отличался у штаммов дикого типа и экспериментальных линий. Так, содержание олеиновой (С18:1) кислоты у стареющего штамма было наименьшим, а наибольшим – в линии А1 (2015). Полиненасыщенная линоленовая кислота (С18:3) в значительных количествах накапливалась в фосфолипидах обеих эволюционирующих линий и, напротив, почти отсутствовала у исходного стареющего варианта.

Фракция стерина содержала эргостерин, в меньших количествах – 9(11)-дегидроэргостерин, 5-дигидроэргостерин, фунгистерин (эргоста-7-енол), 24-метиленланостерин (эбурикол) и пероксид эргостерина (рис. 2). Состав стерина линии А1 статистически не

отличался от ДТМ и сохранялся в процессе глубинного культивирования (точки 2012–2018). В то же время, у ДТС зарегистрировано значительное накопление пероксида эргостерина и 9,11-дегидроэргостерина, а также полное отсутствие фунгистерина.

В литературе имеются многочисленные сообщения о наличии пероксида эргостерина у разных видов грибов [11, 12], однако механизмы его образования в клетке до сих пор не известны. Было высказано мнение, что это соединение является артефактом и образуется при окислении эргостерина в процессе пробоподготовки [13], однако дальнейшие исследования показали, что синтез пероксида эргостерина происходит *in vivo* одновременно двумя способами – ферментативным и фотохимическим [14]. Накопление данного соединения в стареющем штамме дикого типа может объясняться гипотезой, которая предполагает участие пероксида эргостерина в детоксикации активных форм кислорода [15]. Хорошо известно, что накопление активных форм кислорода – ведущий фактор старения *P. anserina* [16].

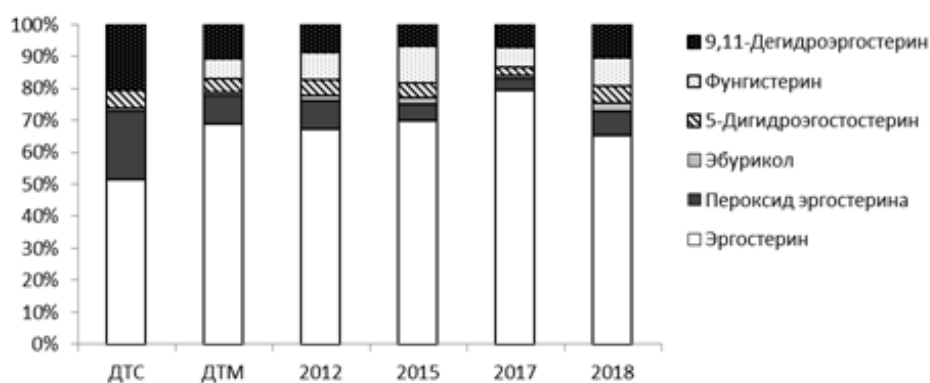


Рис. 2. Состав стерина экспериментальной линии А1 *P. anserina* в сравнении с дикими контрольными вариантами. ДТС – стареющий контрольный штамм, ДТМ – молодой контрольный штамм. 2012, 2015, 2017, 2018 годы – даты отбора мицелий из длительно поддерживаемых экспериментальных линий.

В отличие от эргостерина, исчезновение фунгистерина в ДТС сложно объяснить простым окислением. Этот стерин содержит всего 1 двойную связь (в то время как эргостерин – 3 двойных связи) и не может быть окислен до пероксида, однако, вероятно, может трансформироваться в какое-либо другое производное, не детектируемое применяемым методом ГЖХ-МС. Возможно, фунгистерин по какой-то причине не синтезируется в стареющей линии дикого типа.

Стерины являются важными компонентами мембран благодаря способности увеличивать плотность упаковки липидов и толщину мембраны. Наряду со сфинголипидами и насыщенными фосфолипидами стерины являются основным компонентом липидных рафтов, представляющих собой платформу для разнообразных процессов внутриклеточного сигналинга, узнавания, сортировки и т.д., в связи с чем обнаруженная взаимосвязь состава стерина и процесса старения *P. anserina* представляется перспективным направлением дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 18-04-01349А.

Список литературы

- Osiewacz H.D. Aging and mitochondrial dysfunction in the filamentous fungus *Podospora anserina*. Model Systems in Aging. Topics in Current Genetics. Eds. Nyström T. and Osiewacz H.D. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag. 2003. V. 3. P. 17–38.
- Мажейка И.С., Кудрявцева О.А., Камзолкина О.В. Контроль продолжительности жизни у грибов и других организмов. Концепция весов. Журнал общей биологии. 2011. Т. 72(4). P. 243–268.
- Кудрявцева О.А., Мажейка И.С., Соловченко А.Е., Камзолкина О.В. Генетическая нестабильность короткоживущего аскомицетного гриба *Podospora anserina*, индуцируемая в процессе продолжительного глубинного культивирования. Микробиология. 2011. Т. 80. № 6. С. 772–786.

4. Kudryavtseva O.A., Safina K.R., Vakhrusheva O.A., Logacheva M.D., Penin A.A., Neretina T.V., et al. Genetics of adaptation of the ascomycetous fungus *Podospora anserina* to submerged cultivation. *Genome biology and evolution*. 2019. V. 11(10). P. 2807–2817.
5. Nichols B. W. Separation of the lipids of photosynthetic tissues: improvements in analysis by thin-layer chromatography. *Biochemica et Biophysica Acta*. 1963. V. 70. P. 417–425.
6. Kotlova E.R., Senik S.V., Kücher T., Shavarda A.L., Kiyashko A.A., Psurtseva N.V. et al. Alterations in the Composition of Membrane Glycero- and Sphingolipids in the Course of *Flammulina velutipes* Surface Culture Development. *Microbiology*. 2009. V. 78 (2). P. 193–201.
7. Benning C., Huang Z.H., Gage D.A. Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cell of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1995. V. 317. P.103–111.
8. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. М.: Мир, 1975. 322 с.
9. Testerink C, Munnik T. Phosphatidic acid: a multifunctional stress signaling lipid in plants. *Trends Plant Sci*. 2005. V. 10(8). P. 368–75.
10. Paradies G., Paradies V., De Benedictis V., Ruggiero F.M., Petrosillo G. Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics. *Biochim Biophys Acta*. 2014. V. 1837(4). P. 408–17.
11. Dembitsky V.M. 2015. Bioactive fungal endoperoxides. *Medical Mycology: Open Access*. V. 1. P. 1–7.
12. Merdivan S., Lindequist U. Ergosterol Peroxide: A Mushroom-Derived Compound with Promising Biological Activities – A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2017. V. 19. P. 93–105.
13. Adam H.K., Campbell I.M., McCorkindale N.J. 1967. Ergosterol peroxide: a fungal artefact. *Nature*, 216: 397.
14. Bates M.L., Reid W.W., White J.D. 1976. Duality of pathways in the oxidation of ergosterol to its peroxide *in vivo*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, V. 2. P. 44–45.
15. da Graça Sgarbi D.B, da Silva A.J.R, Carlos I.Z., Silva C.L., Angluster J., Alviano C. S. Isolation of ergosterol peroxide and its reversion to ergosterol in the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*. *Mycopathologia*. 1997. V. 139. P. 9.
16. Lorin S., Dufour E., Sainsard-Chanet A. Mitochondrial metabolism and aging in the filamentous fungus *Podospora anserin*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2006. V. 1757. P. 604–610.

ПРИОН-ПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Шейко Е.А.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь

Прионы - инфекционные агенты белковой природы. Наиболее известные из прионных заболеваний - болезнь Крейтцфельда-Якоба, синдром Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, болезнь каннибалов куру, а также бычья губчатая энцефалопатия и скреппи овец. Все эти заболевания имеют нейродегенеративный характер, неизлечимы и приводят к смерти. В течение длительного времени все известные проявления прионного феномена были связаны лишь с белком PrP млекопитающих. Обнаружение подобных белков у низших эукариот существенным образом расширило представление о них. У микроорганизмов, в частности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и гриба *Podospora anserina*, известно несколько белков, способных переходить в прионовые формы. Следует отметить, что эти прионы проявляют себя не как инфекционные агенты, а как генетические элементы, определяющие возникновение нехромосомных наследственных признаков. Как объект исследования они имеют ряд явных преимуществ по сравнению с PrP млекопитающих: эксперименты с прионами дрожжей не занимают много времени, они доступны и безопасны.

Впервые наследственный фактор внеядерной и митохондриальной природы, так называемый [PSI+], детерминант дрожжей *Saccharomyces* был обнаружен в 1965 году Брайаном Коксом (B.S.Cox). Но объяснить природу этого белка удалось лишь в 1994 г. Риду Уикнеру (R.B.Wickner), который предположил, что [PSI+] отражает переход белка Sup35 в неактивную прионную форму. Эта гипотеза вскоре подтвердилась сотрудни-

ками лаборатории Сьюзан Линдквист (S.Lindquist) и лаборатории молекулярной генетики Института биохимии имени А.Н.Баха РАН. Было выяснено, что в клетках, содержащих [PSI+], белок Sup35 переходит в агрегированное состояние, и эти агрегаты обладают характерным свойством прионов - способны переводить неагрегированный белок Sup35 из неприонных клеток [PSI-] в агрегированную форму. Другой наследственный детерминант дрожжей [Ure3] был открыт Франсуа Лакрутом (F. Lacroute) в 1971 году. Анализ первичной структуры Sup35 и Ure2 выявил значимое сходство: оба содержали прионогенный аминоконцевой домен, обогащенный остатками глутамина и аспарагина (QN), а также функциональный домен. Затем был найден прион [PIN+], повышающий частоту возникновения [PSI+]. Соответствующий белок, Rnq1, также богат QN, хотя и не содержит явного функционального домена. Был произведен целенаправленный анализ QN-богатых белков, в результате чего было обнаружено еще несколько прионов. Кроме того, многие из QN-богатых белков оказались способны образовывать амилоиды при повышенной активности, но не могли стабильно сохранять прионное состояние при обычной экспрессии. Недавно найден первый прион дрожжей, Mod5 [MOD+], не обогащенный остатками QN. В противоположность дрожжам, белок PrP и большинство амилоидных белков млекопитающих не отличаются избытком QN. Исключение составляют ген-тингтин (агрегирующий в нейронах головного мозга) и еще не-

сколько белков, образующих амилоиды при удлинении в них полиглутаминового участка.

Детерминанты [PSI+] и [Ure3] являются прионами, появляющимися при мутациях генов *Saccharomyces* – SUP35 и SUP45, соответственно. Эти гены отвечают за синтез факторов терминации трансляции (ризилинг-факторов), ген SUP35 дрожжей *Saccharomyces* отвечает за синтез белка eRF3 (другое название Sup35), ген SUP45 – за синтез eRF1 (Sup45). Как известно, терминация трансляции происходит тогда, когда рибосома достигает одного из стоп-кодонов (терминирующих кодонов) – UAG, UGA и UAA. Они не кодируют аминокислот и получили название нонсенс-кодонов. Ризилинг-факторы включаются в работу при попадании нонсенс-кодонов в аминокислотный центр рибосомы. eRF1 вызывает изменения пептидилтрансферазы, в результате которых данный фермент гидролизует эфирную связь между COOH-группой белка и OH-группой 3-концевого нуклеотида, т.е. осуществляет отщепление синтезированного пептида от тРНК. eRF1 – это GTP-аза, которая стимулирует фактор eRF1 и обеспечивает высвобождение новосинтезируемой полипептидной цепи с рибосомы. Конечно, гены SUP45 и SUP35 жизненно важны для клетки. Тем не менее, показана возможность возникновения в них нонсенс-мутаций, которые, казалось бы, должны приводить к необратимым изменениям в клетке из-за нарушения терминации трансляции всех ее белков. Нонсенс-мутация – это появление терминирующих кодонов внутри гена. Но оказалось, что эти, так называемые прямые мутации, могут реверсировать, т.е. «переключаться» обратными мутациями в том же сайте (истинными обратными мутациями) и восстанавливать дикий (исходный) фенотип. Есть и другая возможность избежать последствия нонсенс-мутации. Она заключается в том, что вторая мутация локализуется в другом месте генома и каким-то образом компенсирует дефект, обусловленный первой мутацией. Мутации такого типа называют супрессорными. Супрессорная мутация приводит к синтезу супрессорной тРНК. Такая тРНК узнает нонсенс-кодон, то есть прочитывает его неканонически, и встраивает определенную аминокислоту в соответствующее место полипептидной цепи, восстанавливая синтез полноразмерного белка. Существуют и «естественные» супрессорные тРНК, так называемые, эндогенные супрессоры. [PSI+] описан как цитоплазматически наследуемый детерминант, усиливающий действие слабого нонсенс-супрессора SUQ5 (кодирует сериновую тРНК с мутацией в антикодоне, комплементарным нонсенс-кодону UAA). Таким образом, появление прионного фактора [PSI+] можно рассматривать как адаптивную реакцию. Большинство из изученных мутаций в генах SUP45 и SUP35 приводят к увеличению уровня эндогенных тРНК, что может объяснять жизнеспособность клетки с нонсенс-мутациями в этих генах. Кроме того, клетки эукариот обладают специальными механизмами узнавания и разрушения мРНК, содержащих преждевременные стоп-кодоны. В отличие от [PSI+] и [Ure3] фенотипическое проявление [PIN+] не связано с инактивацией соответствующего белка. Детерминант [PIN+] был описан как фактор, необходимый для возникновения [PSI+], вызванного сверхпродукцией белка Sup35. Этот детерминант также спо-

собствует более эффективному образованию [Ure3]. В отличие от возникновения, наследование [PSI+] и [Ure3] не зависит от [PIN+]. В процессе поиска белков, соответствующих детерминанту [PIN+], было выявлено несколько разных белков, однако в норме [PIN+] образуется в результате прионного превращения белка Rnq1 с неизвестной функцией. Эффект [PIN+] связан со способностью прионной формы Rnq1 служить затравкой для прионной агрегации Sup35. Sup35, Sup45 и Rnq1 относятся к группе белков, обогащенных глутамином и аспарагином, что предотвращает их склонность к формированию упорядоченных амилоидных агрегатов, обогащенных β-слоями, но белок PrP не является таковым.

Согласно полимерной модели прионного превращения, прион – это разновидность амилоида, т.е. нековалентно-связанный белковый полимер. Амилоидами называют фибриллярные белковые агрегаты с регулярной структурой, признаваемые причиной более 30 неизлечимых возрастных заболеваний, таких, например, как болезни Альцгеймера и Паркинсона. Амилоиды подобны прионам по двум ключевым свойствам. Во-первых, укладка белка в составе амилоида существенно изменена и образует характерную структуру, называемую кросс-бета, в которой полипептидные цепи перпендикулярны оси фибриллы, а образуемые ими бета-слои параллельны оси. Во-вторых, амилоид катализирует структурное превращение и полимеризацию нормальной мономерной формы соответствующего белка. В поддержку полимерной модели для белка Sup35 Джон Гловер (J.R.Glover) и Сюзан Линдквист показали, что *in vitro* белок Sup35 образует амилоидные фибриллы. Для этого, как и для поддержания прионного состояния, необходим только небольшой аминоконцевой домен Sup35. Аналогичные результаты были получены и для другого прионного белка дрожжей, Ure2. В дальнейшем выяснилось, что прионогенный аминоконцевой домен образует стержень амилоида, к которому прикреплены прочие домены белка, вероятно, сохранившие свою исходную структуру. Похожее строение имеют все прионы дрожжей.

Преимущества прионов дрожжей не столь очевидны, хотя некоторые из них дают потенциально полезные фенотипы. Так, [MOD+] повышает устойчивость к фунгицидам группы азолов; [PSI+] компенсирует нонсенс-мутации, а [URE3] позволяет усваивать бедные источники азота. Прион [hets] гриба *P. anserina* входит в систему вегетативной несовместимости, контролирующую дальнеродственные скрещивания гриба. Сочетание приона и определенных аллелей гена hets запускает механизм гибели клеток, образующихся при скрещивании. Фактически, прион случайным образом делит популяцию на две части. Одна из них консервативна, «строга» к скрещиваниям, что защищает ее от вирусных эпидемий, другая же пользуется всеми благами генетического обмена, но рискует встретиться с вирусом. А популяция в целом получает достоинства обеих стратегий. Но, кроме того, каждый из прионов прямо или косвенно влияет на множество различных функций и фенотипических характеристик. В частности, пять из девяти прионных белков дрожжей (Ure3, Swi1, Mot3, Cys8 и Sfp1) участвуют в регуляции транскрипции.

Выводы. Появление прионов в отдельных клетках популяции дрожжей случайно, а их многочисленные фенотипические проявления непредсказуемы. Но они вносят фенотипическое разнообразие и позволяют популяции найти лучший ответ на различные неблагоприятные условия (температуру, отсутствие воды и питания), часто возникающие в природе. Примечательно, что при нормализации условий прионы, в отличие от

мутаций, могут быть потеряны со сравнительно высокой частотой, и тогда клетки вернутся точно к исходному фенотипу. Таким образом, прионы и амилоиды могут не только вызывать болезни, но и играть важную биологическую роль. Можно ожидать открытия множества новых механизмов, связанных с прионами и амилоидами, поскольку для большинства организмов их поиск еще не был проведен.

СОРБЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ МИКРОМИЦЕТА *ALTERNARIA SP.* ПО ОТНОШЕНИЮ К ИОНАМ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Скугорова С.Г.^{1, 2}, Кантор Г.Я.^{1, 2}, Домрачева Л.И.^{1, 3},

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар

²Вятский государственный университет, Киров

³Вятская государственная сельскохозяйственная академия, Киров

Биосорбция является одной из эффективных технологий очистки сточных вод и почв, загрязнённых тяжёлыми металлами (ТМ) [1]. В качестве высокоэффективных биосорбентов используют бактерии, водоросли и грибы [2]. Микромицеты обладают высоким сорбционным потенциалом по отношению к ионам ТМ благодаря высокой степени адаптации, устойчивости к действию ТМ, способности аккумулировать и трансформировать соединения ТМ [3]. Ранее нами показана высокая сорбционная активность грибов р. *Fusarium* по отношению к ТМ [4].

В работе [5] установлено, что выращивание микромицета *Alternaria alternata* в течение 7 сут на питательном растворе, содержащем ионы меди и свинца в концентрации 50 мг/л, приводило к снижению концентрации в растворе Pb²⁺ на 80%, а Cu²⁺ – на 76,4%.

Целью данной работы было дать характеристику сорбционной способности одного из видов микромицетов р. *Alternaria* по отношению к ионам меди(II), свинца(II) и кадмия, а также сравнить её с сорбционной способностью грибов р. *Fusarium*.

При проведении опытов по сорбции ионов ТМ использовали микромицет *Alternaria sp.* Культивирование мицелия гриба проводили в колбах в течение 3 месяцев на жидкой среде Чапека. Мицелий гриба тщательно отмывали от питательной среды дистиллированной водой, высушивали до постоянной массы и измельчали. Содержание ионов свинца(II), меди(II) и кадмия в растворе измеряли потенциометрическим методом на иономере «Эксперт-001» с ионоселективными электродами. Опыт проводили с использованием магнитной мешалки при температуре 23±1 оС.

В стакан наливали 50 мл раствора нитрата ТМ с концентрацией 1·10⁻⁴ моль/л (М), погружали в раствор магнит, ионоселективный электрод, рН-электрод и двухключевой электрод сравнения, включали мешалку [6]. Запускали программу приёма данных с иономера. Пробу сухого мицелия (средняя масса сорбента 0,0500 г) быстро вносили в стакан с раствором. Для приёма и обработки данных использовали программу EXP2PR (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ»).

При описании кинетики сорбции использовали модели псевдо-первого и псевдо-второго порядков,

модифицированную модель второго порядка и модель Еловича [3, 7, 8]. Значения параметров кинетических моделей, усреднённые за полное время каждого измерения, были найдены методом наименьших квадратов при помощи надстройки «Поиск решения» программного пакета Microsoft Office Excel.

При подборе уравнения модели кинетики рассчитывали коэффициент детерминации r² по формуле:

$$r^2 = 1 - \frac{D_1}{D_2} \quad 1)$$

где D₁ – дисперсия разности экспериментальных и расчётных данных; D₂ – дисперсия экспериментальных данных. Математическую модель, оптимально описывающую кинетику сорбции, подбирали по максимальному значению r².

В ходе исследования получены экспериментальные кривые сорбции микромицетом *Alternaria sp.* ионов меди(II), свинца(II) и кадмия (рис.). Установлено, что для описания кинетики сорбции ионов меди(II) и свинца(II) наиболее приемлемым оказалось уравнение псевдо-первого порядка, для ионов кадмия – уравнение псевдо-второго и модифицированного второго порядка (табл. 1).

Так как кинетика сорбции ионов различных ТМ описывается различными моделями, то использовали такие параметры сорбента, как равновесную удельную массу сорбата (a_ε), начальную скорость сорбции (v_{нач.}), время достижения сорбированной массой 95% или 99% от значения a_ε (t_{95%}/t_{99%}) [4]. Начальную скорость сорбции рассчитывали по формуле:

$$v_{нач.} = \frac{a_{t_1} - a_{t_0}}{t_1 - t_0}, \quad 2)$$

где t – время (с): t₀ = 0 с, t₁ = 1,123 с; a_i – удельная масса сорбата по наиболее оптимальной модели (ммоль/г): a₀ при t = t₀, a_{t1} при t = t₁. Сорбируемый ион

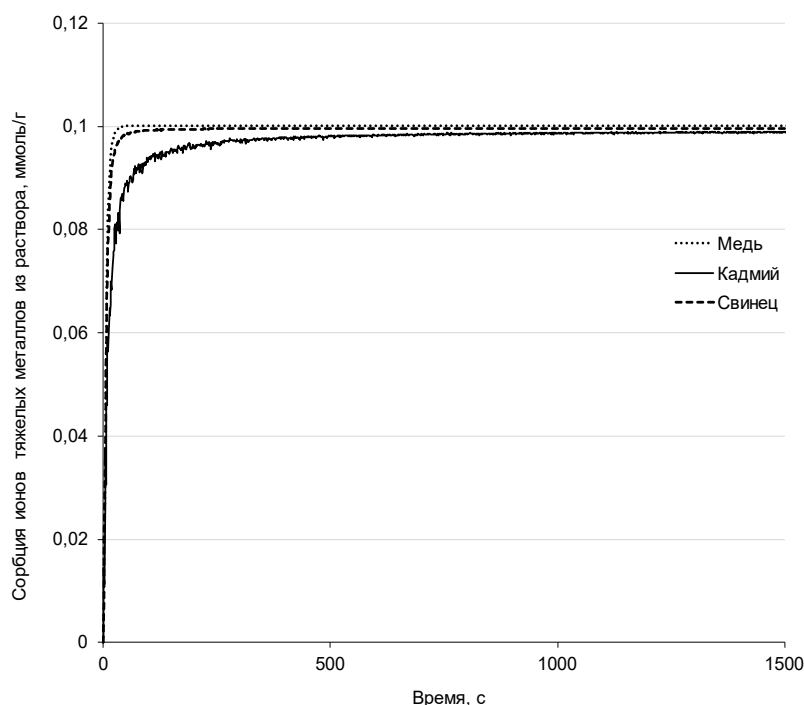


Рис. Кривые кинетики сорбции ионов тяжелых металлов из растворов сухим мицелием гриба *Alternaria* sp

Таблица 1 Результаты статистической обработки (r^2) кинетических кривых сорбции ионов ТМ микромицетом *Alternaria* sp. моделями химической кинетики

Сорбируемый ион	Модель			
	псевдо-первого порядка	псевдо-второго порядка	модифицированного второго порядка	модель Еловича
Cu ²⁺	0,8705	0,9848	0,8705	0,3821
Pb ²⁺	0,9189	0,9955	0,9189	0,4212
Cd ²⁺	0,9899	0,9305	0,9899	0,6042

Примечание: жирным шрифтом выделены максимальные значения.

Ёмкость сорбента характеризует равновесная удельная масса сорбата, которая для разных ионов отличалась не сильно, варьируя от 0,0995 до 0,1002 ммоль/г сорбента (табл. 2). Полученные данные хорошо согласуются с данными по сорбции ТМ мицелием грибов р. *Fusarium*, a_e для которых изменялась от 0,090 до 0,108 ммоль/г сорбента [4].

Значения начальной скорости сорбции микромицетом *Alternaria* sp. для разных ионов также практически не отличались (11,81–13,67 мкмоль/(г·с)). Максимальное значение $v_{нач.}$ отмечали при сорбции ионов меди, немного ниже были значения при сорбции ионов свинца и кадмия. Для грибов р. *Fusarium* начальная скорость сорбции по меди и кадмию была гораздо меньше: ниже,

чем для альтернэрии в 2,6 и 14,7 раза соответственно [4].

Время достижения сорбированной массой 95% или 99% от значения a_e для ионов меди и свинца было очень близко, а для ионов кадмия значения были в 7–23 раза больше, т. е. сорбция кадмия происходила медленнее. Такая же закономерность отмечена нами ранее и для фузариев [4]. Однако для *Alternaria* sp. характерны в 2,2–6,7 раза более низкие значения $t_{95\%}$ и $t_{99\%}$, т. е. процесс сорбции идёт быстрее, чем для *Fusarium*.

Таким образом, кинетика сорбции ионов меди(II) и свинца(II) сухим мицелием *Alternaria* sp. хорошо описывает уравнение псевдо-первого порядка, ионов кадмия – уравнение псевдо-второго и модифицирован-

Таблица 2 Параметры процесса сорбции ионов ТМ микромицетом *Alternaria* sp.

Сорбируемый ион	a_e , ммоль/г	$v_{нач.}$, мкмоль/(г · с)	$t_{95\%}$, с	$t_{99\%}$, с
Cu ²⁺	0,1002	13,67	20,2	31,3
Pb ²⁺	0,0995	12,36	22,3	34,7
Cd ²⁺	0,0995	11,81	138	723

ного второго порядка. Установлено, что значения сорбционной ёмкости гриба *Alternaria* sp. по отношению к ионам различных ТМ очень близки. Время достижения сорбированной массой 95% или 99% от значения a_e , характеризующее скорость сорбции, для ионов кадмия больше в 7–23 раза, чем для ионов меди и свинца. По сравнению с микромицетами р. *Fusarium*, процесс сорбции ТМ грибом *Alternaria* sp. происходит в 2,2–6,7 раза быстрее, хотя по сорбционной ёмкости они практически не различаются.

Авторы благодарят доктора биологических наук, заведующую лабораторией ФАНЦ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого Т. К. Шешегову за предоставленный для культивирования штамм *Alternaria* sp.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.

Список литературы

- Papirio S., Frunzo L., Mattei M.R. et al. Heavy metal removal from wastewaters by biosorption: mechanisms and modeling // Sustainable heavy metal remediation. V. 1: Principles and processes. P. 25–64 / Eds. E.R. Rene, E. Sahinkaya, A. Lewis, P.N.L. Lens // Environmental chemistry for a sustainable world. Springer International Publishing AG. 2017. V. 8. doi: 10.1007/978-3-319-58622-9
- Volesky V. Biosorbent materials // Biotechnol. Bioeng. Symp. 1986. V. 16. P. 121–126.
- Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И. Биосорбция тяжёлых металлов микромицетами: особенности процесса, механизмы, кинетика // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 2. С. 14–31. doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-014-031
- Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И., Шешегова Т.К. Оценка сорбционных способностей различных видов микромицетов рода *Fusarium* по отношению к ионам тяжёлых металлов // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 4. С. 102–109. doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-103-109
- Verma J., Bhatt A., Agrawal P.K. *In-vitro* study on bioaccumulation and tolerance of heavy metals by endophytic fungi *Alternaria alternata* isolated from *Cupressus torulosa* D. Don // Oct. Jour. Env. Res. 2016. V. 4. No. 2. P. 146–154.
- Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И., Кутявина Т.И. Сравнительный анализ эффективности использования сорбентов различной природы по отношению к ионам меди(II) // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 3. С. 12–18. doi: 10.25750/1995-4301-2018-3-012-018
- Ho Y.S., Ng J.C.Y., McKay G. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review // Separ. Purif. Methods. 2000. V. 29. No. 2. P. 189–232. doi: 10.1018/SPM-100100009.
- Cheung W.H., Ng J.C.Y., McKay G. Kinetic analysis of the sorption of copper(II) ions on chitosan // J. Chem. Technol. Biotechnol. 2003. V. 78. No. 5. P. 562–571. doi: 10.1002/jctb.836

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ГРИБОВ *LENTINULA EDODES*, *OPHIACORDYCEPS SINENSIS*

Ткачёва М.Н.

Воронежский государственный университет

В настоящее время фотобиология грибов является одной из составляющих современной биоинженерии. Существующие публикации по использованию импульсного светового воздействия демонстрируют потенциальную перспективность этой формы воздействия в отношении грибов, в частности как потенциальных продуцентов биологически активных веществ [1]. Целью работы являлось исследование воздействия импульсного красного света на онтогенетическое развитие грибов *Lentinula edodes* (Berk.) и *Ophiocordyceps sinensis* (Berk.).

При облучении шиитаке использовался мицелий в экспоненциальной фазе роста культивируемый как на

агаризованной питательной среде, так и на опилочном субстрате. На мицелий, выращенный в чашках Петри на агаризованной среде, воздействовали облучением с разной длительностью экспозиции: первый вариант –30с; второй вариант –60с. Облучение мицелия на опилочном субстрате проводилось при экспозиции 60 секунд на стадии белого блока, наиболее восприимчивой к внешним воздействиям.

В ходе наблюдений отмечено отсутствие каких-либо визуально регистрируемых изменений морфологии поверхностных клеток мицелия шиитаке на протяжении всего периода исследований. Используемая экспозиция импульсного красного света не вызывала

ответных реакций характерных для жёсткого лучевого стресса, например, подобного воздействию ультрафиолета. Обобщённые результаты продемонстрировали, что независимо от условий культивирования начальные этапы онтогенеза шиитаке опытных вариантов не имеют отличий от контроля. Значительные отличия в морфогенетических процессах между облученными образцами и контрольными наблюдались на завершающих этапах онтогенеза; когда в условиях дефицита воды, истощений питательных компонентов, накопления ингибирующих продуктов жизнедеятельности контрольные образцы демонстрировали отмирание тканей. Но в то же самое время экспериментальные варианты переходили к формированию очередной волны плодовых тел. В чашках Петри плодоношение на агаризованной среде наблюдалось на четвёртый месяц после облучения [2]. На опилочном субстрате плодоношение отмечалось через 14-17 месяцев от начала опыта. Оба варианта постановки опыта указывают, по нашему мнению, на возможность индукции существенных изменений в физиологическом развитии шиитаке, которые могут проявляться в течение длительного промежутка времени.

В опытах с эксплантами кордицепса обработка осуществлялась на начальной фазе вегетации в два этапа:

1) облучение импульсным красным светом (ИКС) в течение 60с.

2) облучение инфракрасным импульсным светом (ИИС) в течение 120 с.

В ходе всего периода наблюдений образцы первой группы демонстрировали формирование более плотного мицелия независимо от диаметра колоний, что, по нашему мнению, указывает на более высокую физиолого-биохимическую активность растущих клеток, подвергшихся облучению ИКС. Шестьдесят эксплантов кордицепса подвергшихся ИКС с интервалом 7 суток были облучены ИИС. Визуальный контроль выявил, что характер роста мицелия претерпел существенные изменения: плотность растущего мицелия стала замет-

но ниже, но длина растущих гифов увеличилась. Новообразующийся мицелий состоял из более длинных, но редко растущих клеток. Таким образом двухкратное облучение не вызвало усиления стимулирующего эффекта в развитии колоний кордицепса. По нашему мнению, замедление нарастания массы грибных клеток после обработки ИИС связано с тем, что инфракрасное облучение являлось энергетически более мощным, а с учётом увеличения времени экспозиции по сравнению с обработкой ИКС повторное облучение выступило в роли повреждающего фактора.

Полученные результаты позволили заключить:

1. Импульсный красный свет способен повысить активность морфобиологических процессов тканей шиитаке, что может проявляться в пролонгации процессов плодоношения.

2. Облучение образцов мицелия кордицепса импульсным светом различной мощности выявило возможность разнонаправленного воздействия на развитие воздушного мицелия, демонстрируя как стимулирующий, так и угнетающий эффект в зависимости от мощности импульсного облучения.

Полученные результаты могут быть использованы в разработке технологических приемов по управлению производственными процессами, связанными с культивированием изучаемых объектов.

Список литературы:

1. Поединок Н.Л., Ефременкова О.В., Михайлова О.Б., Негрейко А.М. Биосинтетическая активность некоторых высших лекарственных грибов после световых воздействий. Успехи медицинской микологии. 2007. 9: 176-178.
2. Ткачёва М.Н. Действие импульсного красного света на *Lentinula edodes* (Berk.). В сб. «Неделя науки СПбПУ: материалы научной конференции с международным участием, 19-24 ноября 2018г.» СПб., ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, (2018) 61-63.

Глава 2. Коллекции и гербарии

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.02

МИКРОМИЦЕТЫ СТАРИННЫХ ГЕРБАРНЫХ ОБРАЗЦОВ

Домрачева Л.И.^{1,2}, Ковина А.Л.¹

¹Вятская государственная сельскохозяйственная академия, Киров;

²Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

Неоднократно была доказана способность различных групп микроорганизмов – бактерий, водорослей и грибов длительное время оставаться жизнеспособными, находясь в высушенном состоянии в гербарных экземплярах [1]. Старинные гербарные образцы сохраняют пул организмов былых эпох. «Жизнью после смерти» была названа коллекция грибов из гербария Государственного музея природы Карлсруэ [2]. Полагают, в частности, что значение коллекции связано с возможностью заимствований для различных научно-исследовательских проектов.

В гербарной коллекции кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА сохранились образцы 3-х видов растений семейства Ranunculaceae: прострел раскрытый (*Pulsatilla patens* (L.) Mill), лютик ядовитый (*Ranunculus sceleratus* (L.)) и лютик золотистый (*R. auricomus* (L.)), собранные в 1899 г. под Санкт-Петербургом, с комочками ризосферной почвы на поверхности корней.

Ризосфера является местом интенсивного взаимодействия растений с микробными партнерами. В этих взаимоотношениях сигнальные молекулы, выделяемые растениями, влияют и на первичное инициирование, и на последующее поведение микроорганизмов в сложных ассоциациях, таких, например, как биоконтроль. Колонизация корней растений – важный этап как для

почвенных патогенов, так и для полезных ризобактерий. Продуцируемые ими антибиотики являются важным фактором подавления болезней корней [3, 4]. Поэтому ризосферные микроорганизмы находятся в зоне постоянного внимания исследователей как потенциальные носители полезных для растения свойств. В этом плане интересны не только микробы, выделяемые из ризосферы и ризопланы современных растений, но и те реликтовые формы, которые можно получить, работая с гербарными образцами растений [5].

Количественный учет ризосферной микробиоты исследуемых гербарных образцов показал, что численность грибов колеблется от 15 до 575 тыс. КОЕ/г и составляет от 15 до 87% от общего количества ризосферных микроорганизмов (табл. 1). Наиболее ярко выражены специфические особенности ризосферы лютика ядовитого, где на долю микромицетов приходится свыше 87% от общей численности микробов. При этом более 90% выросших колоний представлены грибами р. *Trichoderma*.

Проведение испытаний антагонистической активности данного гриба против трех видов фитопатогенных грибов р. *Fusarium* показало, что триходерма подавляет активность роста *F. culmorum* и *F. oxysporum* в 2 и в 3 раза по сравнению с контролем соответственно. В то же время практически не влияет на развитие *F. poae* (табл. 2).

Таблица 1. Численность микромицетов и их доля в общей численности микроорганизмов в ризосферной почве гербарных образцов растений семейства Ranunculaceae

Ризосферная почва	Численность микромицетов (КОЕ×10 ³ /г)	Содержание микромицетов (%)
Лютик золотистый	90±14	27,7
Лютик ядовитый	575±18	87,2
Прострел раскрытый	15±7	15,3

Таблица 2. Влияние *Trichoderma* sp. на степень развития фитопатогенных грибов на поверхности питательной среды (%)

Вариант	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium poae</i>
Контроль	100	60	100
<i>Trichoderma</i> sp.	50	20	100

Сравнение антагонистической активности культуры гриба *Trichoderma* sp., вырезанных в виде дисков с газонов, растущих на среде Чапека, и дисков *T. lignorum*, входящей в состав биопрепарата триходермин, при внесении на газоны *F. culmorum* показало, что *T. lignorum* способствует образованию зон лизиса на газоне фузариума, не превышающего 3 мм. В то же время *Trichoderma* sp. полностью растворяет мицелий фузариума в диапазоне более 1,5 см.

Таким образом, выделенный из ризосферной почвы старинного гербарного образца штамм *Trichoderma* sp. можно рассматривать как перспективный биотехнологический объект для подавления фитопатогенных грибов р. *Fusarium*.

Список литературы

- Scholler M. Leben nach dem Tod: Die Pilzsammlungen des Herbariums des Staatlichen Museums für Naturkunde Karlsruhe (KR) // Andrias, 2012. No 19. P. 139-143.
- Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. М., «Наука», 1976. 143 с.
- Kiely P. D., Haynes J. M., Higgins C. N., Franks A., Mark G. L., Morrissey J. P., O'Gara F. Exploiting new systems-based strategies to elucidate plant-bacterial interactions in the rhizosphere // Microbial Ecol. 2006. V. 51. № 3. P. 257–266.
- Buchenauer H. Principles in biological control of soil-born diseases: Colonization, antagonism, plant growth promotion and induced resistance // Mitt. Biol. Bundesanst. Land and Forstwirt. Berlin-Danlem. 2006. № 408. P. 20–29.
- Ковина А. Л., Домрачева Л. И., Малинина А. И. 120-летняя сохранность ризосферной микрофлоры гербарных образцов растений семейства Ranunculaceae (Лютиковые) // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XVI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Кн. 1. Киров: ВятГУ, 2018. С. 230–233.

ГРИБЫ РОДА COLLETOTRICHUM В ГЕРБАРИИ ЛАБОРАТОРИИ МИКОЛОГИИ И ФИТОПАТОЛОГИИ ВИЗР (ЛЕР)

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

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

Виды рода *Colletotrichum* являются возбудителями антракнозов многих сельскохозяйственных культур; у некоторых видов выявлен микогербицидный потенциал как агентов биоконтроля сорных растений. На территории бывшего Советского Союза известно около 80 видов *Colletotrichum* (Васильевский, Каракулин, 1950). В микологическом гербарии лаборатории Микологии и фитопатологии ВИЗР (ЛЕР) хранится более 300 образцов растений, пораженных видами *Colletotrichum*, относящихся к 42 видам, а также несколько видов *Vermicularia*, в настоящее время включенных в род *Colletotrichum* (см. список). В скобках указаны современные названия видов согласно базе данных Index Fungorum.

Список видов *Colletotrichum*, обнаруженных на территории бывшего СССР, в гербарии ЛЕР.

Colletotrichum agaves Cavara (= *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes) (*Agave americana*, Сочи); *C. alni* Siemaszko (*Alnus glutinosa*, Сочи); *C. aloes* Vass. (*Aloe* sp., Ленинград); *C. atramentarium* (Berk. & Broome) Taubenh. (= *C. coccodes*) (*Solanum tuberosum*, Биробиджан, Московская обл., Закарпатская сельскохозяйственная станция); *C. atropae* Klartzoza (*Atropa belladonna*, Могилев); *C. boehmeriae* Sawada (*Boehmeria nivea*, Грузия); *C. berteroa* sp.n. (*Berteroa incana*, Смела); *C. camelliae* Masee (= *C. coccodes*) (*Thea camellia*, Краснодарский край, Грузия); *C. cerasi* sp.n.; *C. caricae* F. Stevens & J.G. Hall (*Ficus carica*, Сочи, Армения); *C. cereale* Manns (*Avena sativa*, Амурская обл., Хабаровск, *Secale cereale*, Великий Устюг, *Triticum durum*, *T. repens*, Хабаровск, *Rottboellia compressa*, Хабаровск); *C. cinchonae*

(*Cinchona calisaya*, Грузия); *C. cinnamomi* Tharp (*Cinnamomum rienwardtii*, Ленинградская обл.); *C. circinans* (Berk.) Voglino (*Allium sepa*, Волгоградская обл.); *C. dictamni* Hollós (*Dictamnus albus*, Ставропольский край); *C. digitalis* (Rostr.) Moesz (*Digitalis purpurea*, Могилев); *C. dracaenae* Allesch. (*Dracaena massangeana*, Ленинград, Ботсад); *C. exiguum* Penz. & Sacc. (= *C. gloeosporioides*) (*Aruncus sylvestris*, Грузия); *C. fructigenum* (Berk.) Vassiljevsky (= *C. gloeosporioides*) (*Prunus cerasus*, Ленинградская обл., Латвия, Рига); *C. fuscum* Laubert (*Digitalis purpurea*, Латвия, Рига); *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (*Citrus reticulata*, Сочи, Грузия, *C. nobilis*, Сочи, *C. limon*, Сочи, Крым, Грузия, Сухум, *Citrus* sp., Сочи, Грузия, Сухум, *Hedera orientale*, Сочи, *H. helix*, Сочи); *C. gossypii* Southw. (*Gossypium* sp., Ялта, Астрахань); *C. graminicola* (Ces.) G.W. Wilson (растение сем. Роасеae, Приморский край, *Festuca gigantea*, *Triglochin palustre*, *Glyceria spectabilis*, Белоцерковский р-н); *C. griseum* Heald & F.A. Wolf (*Euponymus japonicus*, Ленинградская обл.); *C. glycines* Hori ex Hemmi (*Glycinia* sp., Приморский край); *C. hederiae* (Pass.) Died. (*Hedera colchica*, Сочи); *C. kruegerianum* Vassiljevsky (= *Colletotrichum coccodes*) (*Lycopersicon esculentum*, Ленинградская обл.); *C. lagenaria* (Pass.) Ellis & Halst. (= *Gloeosporium orbiculare* (Berk.) Berk.) (*Cucumis sativus*, Ростовская обл., Амурская обл., Херсонская обл., Латвия, Рига, *Citrullus lanatus*, Ленинград, Курская обл., Краснодар, Сочи, Самара, Алтай, *Cucumis melo*, Курская обл., Алтай, *Orobancha aegyptica*, Астраханская обл.); *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara (*Phaseolus vulgaris*, Архангельская губ.,

Ярославская губерния, Гагра, Эссенуки, Одесса, с. Отрадо-Кубанское, Биробиджан, Владикавказ, Бессарабия, Амурская обл., Приморский край, Глухов, Минск, *Pisum sativum*, Ярославская губерния, *Cucumis sativus*, Ленинградская обл., *Piper* sp., Азербайджан, *Lens culinaris*, Белая Церковь, растение сем. Fabaceae, Люблинская губерния, *Vicia faba*, Ленинград); *C. lini* Manus & Bolley (*Linum usitatissimum*, Ленинградская обл., Мурманский округ, Вятская губ., Вологодская обл., Смоленская обл., д. Курцево, Ярославская губ., Никольск-Уссурийский, Латвия, Рига, Киргизия, Фрунзе; *C. lupini* (Bondar) Damm, P.F. Cannon & Crous (*Lupinus angustifolius*, L. albus, L. polyphyllus, Брянская обл.); *C. malvarum* (A. Braun & Casp.) Southw. (*Althaea officinalis*, Полтавская обл., A. rosea, Ленинградская обл., *Malva neglecta*, Латвия, Рига, M. crispa, Ленинградская обл., M. pusilla, Новосибирская обл., M. rotundifolia, Чернигов, M. sylvestris, Полтавская обл., M. borealis, Киевская губ., *Malva* sp., Омск); *C. montemartini* Tognini (*Arum maculatum*, Сочи); *C. melongena* Lobik (= *C. coccodes*) (*Solanum melongena*, Майкоп); *C. nigrum* Ellis et Halst. (*Capsicum annuum*, Майкоп); *C. oligochaetum* Savara (= *G. orbiculare*) (*Citrullus lanatus*, Вятка, Майкоп, Бийск, Амурская обл., *Cucumis sativus*, Краснодар, Сочи, Туапсинский р-н, с. Отрадо-Кубанское, Амурская обл., Киевская губ., Полтава, Сухум, Армения, Делижанский р-н, *Cucumis melo*, Кировоградская обл., с. Михайловка, Алтайский край, Астраханская губ., Севастополь, Гагра, Сочи, Хоперский округ, Бийский р-н, Херсонская обл., Амурская обл., *Lagenaria* sp., Сухум, *Luffa cylindrica*, Узбекистан, Ташкентский округ); *C. orchidearum* Allesch. (*Coelogyne cristata*, Ленинград, Ботсад, Детское село, *Pleurothallis orphiocephala*, Ленинград, Ботсад, *Stanhoea* sp., Детское село); *C. padi* var. *amygdali* Girz. (*Amygdalus nana*, Киев, Ботсад); *C. panacicola* Nakata et S. Takim. (*Panax ginseng*, Сухум); *C. phomoides* (Sacc.) Chester (= *C. coccodes*) (*Lycopersicon esculentum*, Екатеринодар, Киевская обл.); *C. perillae* Abramov (*Perilla osymoides*, Приморский край); *C. periclymeni* (Desm.) Höhn. (= *Kabatia periclymeni* (Desm.) M. Morelet) (*Lonicera xylosteum*, Латвия, Сигулда, L. praeiflorens, Владивосток), *C. pisi* Pat. (*Pisum sativum*, Амурская обл., Алма-Ата); *C. pruni-domesticae* Gurz. (*Prunus domestica*, Киев); *C. socium* Syd. (*Salix triandra*, Латвия, Сигулда); *C. trifolii* Bain (*Trigonella foenum-graecum*, Минск, *Trifolium pratense*, Кенигсберг); *C. taraxaci* Kletz. (*Taraxacum kok-saghyz*, Рыльский р-н, *Prenanthes tatarinowii*, Приморский край); *C. valerianae* Kwashn. (*Valeriana officinalis*); *C. violae-tricoloris* R.E. Sm. (*Viola ignobilis*, Владикавказ, *V. orientalis*, п. Катаяма, V.

tricolor); *Colletotrichum* sp. (*Lagenaria* sp., Приморский край, *Avena sativa*, Никольск-Уссурийский, *Smilacina japonica*, Приморский край, *Stauntonia* sp., Сочи, *Viola orientalis*, Приморский край, Никольск-Уссурийский, *Combretum* sp., Москва, Ботсад, *Phormium tenax*, Грузия, *Hypericum tetrapterum*, Сочи); *Vermicularia circinans* Berk. (= *C. circinans* (Berk.) Voglino) (*Allium sera*, Лифляндская губерния); *V. dematium* (Pers.) Fr. (= *C. dematium* (Pers.) Grove) (*Polygonum* sp., *Lavatera thuringiaca*, *Angelica* sp., Алтайский край, *Anthriscus* sp., Санкт-Петербург, *Allium* sp., *Angelica sylvestris*, *Anthriscus sylvestris*, *Poa* sp., *Matthiola* sp., Петроградская губерния, *Quercus* sp., *Lavatera thuringiaca*, *Fraxinus excelsior*, Курская обл., Борисовский р-н, *Phytolacca esculenta*, Латвия, Рига, *Lupinus angustifolius*, Минск, *Silene tatarica*, *Viola mirabilis*, Пермская губерния, *Ruscus aculeatus*, *Angelica sylvestris*, *Vincetoxicum scandens*, Абхазия, *Dictamnus albus*, Пятигорск, *Prunus spinosa*, Самарская губерния, *Lappa* sp., Кировоградская обл., *Aegorodium podagraria*, Киевская губерния, *Trifolium* sp., Москва, *Panax ginseng*, *Fraxinus* sp., Приморский край, *Avena sativa*, Никольск-Уссурийский, *Lappa tomentosa*, Вятская губерния, *Urtica dioica*); *V. lineola* (Corda) Grove (= *C. lineola* Corda) (*Calamagrostis epigeios*, Латвия, Рига); *V. trichella* Fr. (= *C. trichellum* (Fr.) Duke) (*Hedera helix*, Ленинград, Ботсад, *Euonymus verrucosus*, Самарский округ, *Malus* sp., Сочи, *Pyrus* sp., Астрахань, *Prunus avium*, *Viola* sp., Сочи, *Pyrus malus*, Петроград).

Коллекция включает образцы, собранные на территории европейской части России, Алтая, Дальнего Востока и стран бывшего Советского Союза. Самый старый образец *C. dematium* на стеблях *Silene tatarica* собран П.В. Сюзевым в 1890 году в с. Вознесенское Пермской губернии (LEP 73288). Виды *Colletotrichum* выявлены на 105 видах растений из 84 родов, 40 семейств. Большинство видов зарегистрировано на сельскохозяйственных и декоративных растениях. Наиболее многочисленными были виды *C. oligochaetum* (= *G. orbiculare*), *C. lindemuthianum*, *C. lini*, *C. gloeosporioides*.

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

Список литературы

1. Васильевский Н.И., Каракулин Б.П. Паразитные несовершенные грибы. Часть II Меланкониальные. М-Л: Издательство АН СССР, 1950. 680 с.

ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КОЛЛЕКЦИИ РОДОДЕНДРОНА (*RHODODENDRON L.*) ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Головченко Л.А., Дишук Н.Г., Тимофеева В.А.
Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Рододендроны – высокодекоративные представители группы красивоцветущих кустарников, широко распространенные по всему земному шару. Первые успешные посадки рододендронов в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси осуществлены в начале 50-х годов 20 века, целенаправленное формирование коллекции началось в 1960-х годах; в настоящее время в коллекции зарегистрировано 67 видов и подвидов, 8 форм и 132 сорта; это одна из наиболее крупных коллекций на территории стран СНГ. Большинство растений имеет возраст более 35 лет, сохранились и экземпляры возрастом более 50 лет [1–4]. В связи с ростом популярности рододендронов в последние десятилетия большое количество видов и сортов стало завозиться из-за рубежа. Новые сорта рододендрона, пополняющие коллекцию в последние годы, в основном завозятся из питомников Польши и Германии [1]. Вместе с посадочным материалом растений в коллекцию попадают и новые виды возбудителей болезней, некоторые из которых наносят ощутимый вред существующим посадкам. Коллекционный фонд живых растений – национальное достояние Республики Беларусь, в связи с чем его сохранение является важной задачей. За все время существования коллекции целенаправленного исследования ее фитосанитарного состояния не проводилось, имеются лишь отрывочные сведения по основным вредителям и болезням рододендронов [3, 5]. Вышеперечисленные обстоятельства обусловили необходимость организации долгосрочного мониторинга за динамикой развития возбудителей болезней и научного обоснования мероприятий, направленных на контроль фитосанитарного состояния растений рододендрона. Цель настоящего исследования – выявление состава и структуры доминирования фитопатогенных организмов в коллекции рододендрона.

Лабораторные и полевые исследования выполнены в лаборатории защиты растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС) в 2016–2019 гг. Материалом для исследования служили растения рода *Rhododendron L.*, произрастающие на коллекционных участках, в питомнике, дендрарии и ландшафтной зоне ботанического сада. Всего проведено обследование фитосанитарного состояния 163 таксонов рододендрона. Обследование растений проводили маршрутным методом, еженедельно, с мая по сентябрь. Определение видового состава патогенных микроорганизмов проводили в соответствии с общепринятыми методиками [6]. Таксономическое описание возбудителей болезней растений дано в соответствии с актуальными данными интернет-портала Index Fungorum [7].

По результатам проведенного фитосанитарного мониторинга установлено, что основными болезнями растений рододендрона в ЦБС являются мучнистая роса, пятнистости листьев и побегов, серая гниль.

Наиболее вредоносна мучнистая роса рододендрона, выявленная на 32 видах и сортах рододендрона.

Средняя степень поражения растений в коллекции составила 2,2 балла. Вечнозеленые формы рододендронов мучнистой росой не поражались. Из обследованных листопадных рододендронов 61,5% сортов и видов поражались мучнистой росой. Из них неустойчивы (степень поражения 3,1–4,0 балла) такие виды и сорта, как *Rh. japonicum*, *Rh. japonicum* var. *aureum*, *Rh. roseum*, *Rh. × hybridum* cv. *Cecile*, *Rh. × hybridum* cv. *Move*, *Rh. × hybridum* cv. *Nabucco*, *Rh. × hybridum* cv. *Silver Slipper*, *Rh. × hybridum* cv. *Spek's Orange*. На листьях сверху появляется белый плотный мучнистый налет, листья приобретают красноватую окраску. Иногда наблюдается нетипичное проявление симптомов мучнистой росы: на верхней стороне листьев образуются красно-коричневые пятна, либо буроватые зоны вдоль жилок листа, либо множество хлоротичных пятнышек. Во всех случаях пораженные листья преждевременно засыхают. В конце августа – начале сентября на нижней и верхней поверхности пораженных мучнистой росой листьев образуются плодовые тела возбудителя болезни (клеистотеции). Микроскопирование органов спороношения патогена позволило идентифицировать возбудителя болезни – патогенный гриб *Erysiphe azaleae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam.

Пятнистости листьев грибной этиологии выявлены преимущественно на 34 видах и сортах рододендрона – на старых растениях, в нижней части кроны или внутри куста. Средняя степень поражения листьев составила 1,03 балла. Листопадные формы рододендронов оказались более устойчивы к поражению возбудителями пятнистостей листьев, по сравнению с вечнозелеными формами: болезни выявлены на 3,8% и 29,4% обследованных таксонов, соответственно. Низкую устойчивость к пятнистостям листьев (степень поражения 2,1–3,0 балла) проявили сорта: *Rh. × hybridum* cv. *Calsap*, *Rh. × hybridum* cv. *Constanze*. Поражение растений различными пятнистостями приводит к усыханию листьев, побегов, преждевременному листопаду, что, в свою очередь, нарушает физиологические процессы в растениях, плохо закладываются цветочные почки.

При поражении песталоциевой пятнистостью (гриб *Pestalotia rhododendri* (D. Sacc.) Guba) на листьях рододендрона (в основном, по краям) возникают небольшие пятна неправильной формы, серебристо-серые с верхней стороны листьев, бурые с нижней стороны листьев. На стеблях пятна удлиненные, слегка вдавленные, серебристого цвета.

Возбудитель антракноза – широко специализированный патогенный гриб *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. – на рододендронах вызывает образование крупных округлых пятен на листьях, краевой некроз листьев.

Возбудители альтернариозной пятнистости – грибы рода *Alternaria* – вызывают образование на концах листьев пятен рыжего цвета, которые постепенно увеличиваются в размере, вызывая краевые некрозы листьев.

Септориозная пятнистость рододендрона (возбудитель – патогенный гриб *Septoria azaleae* Voglino [= *Sphaerulina azaleae* (Voglino) Quaedvl.]) проявляется, в основном, образованием на листьях мелких округлых красноватых пятен, либо красновато-желтых, сероватых пятен неправильной формы, у которых к осени светлеет центральная часть.

Определено 2 вида возбудителей филлостиктозной пятнистости, вызывающих образование на листьях крупных бурых расплывчатых пятен с красноватой каймой (гриб *Phyllosticta concentrica* Sacc.), или мелких пятен красного цвета с коричневой каймой (*Phyllosticta rhododendricola* Brunaud.), некротические ткани высыхают и выпадают, оставляя в листьях дырки.

На листьях двух взрослых растений *Rh. carolinianum* выявлена пятнистость невыясненной этиологии. На молодых, только что распустившихся и старых листьях образуются вдавленные пятна желтоватого цвета. Соседние растения таких характерных симптомов болезни не имели. В лабораторных условиях не получено подтверждения бактериальной или грибной этиологии данной пятнистости, не выявлено следов повреждения вредителями. Установление причины появления данной пятнистости будет продолжено.

Серая гниль отмечена на 9 сортах и видах рододендрона. Степень развития болезни не превышала 1 балл. Возбудитель серой гнили (гриб *Botrytis cinerea* Pers.) вызывает образование на листьях, стеблях, почках, бутонах, лепестках расплывчатых бурых пятен без окаймления, ткани которых быстро засыхают и растрескиваются. При обилии влаги пораженные ткани покрываются пушистым дымчато-серым налетом спороношения.

Не выявлено поражение растений бактериальным раком, фитофторозом, восковой болезнью, корневой гнилью, которые часто отмечаются в питомниках Европы.

Таким образом, в результате проведенного исследования уточнен видовой состав и структура доминирования возбудителей болезней и вредителей растений рододендрона в насаждениях Центрального ботанического сада НАН Беларуси. На рододендронах выявлено 8 видов возбудителей болезней грибной этиологии. Наиболее вредоносен гриб *Erysiphe azaleae*, для контроля развития которого в ближайшее время требуется разработка системы защитных мероприятий.

Список литературы

1. Володько И.К., Филипена В.Л., Альферович Ж.Д. Результаты интродукционных испытаний сортов рододендрона в условиях Беларуси // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры. Международная конференция посвященная 80-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси, 19-22 июня 2012 г., Минск. В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси, Центр. бот. сад; редкол.: В.В.Титок [и др.]. – Минск, 2012. – С. 50-54.
2. Володько И.К., Рупасова Ж.А., Рудевич М.Н. и соавт. Коллекция рода *Rhododendron* L. Центрального ботанического сада НАН Беларуси: история формирования, изучение, перспективы развития и использования // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: матер. III Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию со дня рожд. акад. Н.В.Смольского (7-9 окт. 2015, Минск). В 2 ч. – Ч. 1. / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В.Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – С. 303-307.
3. Володько И.К., Титок В.В. Эколого-биологические основы интродукции рододендронов (*Rhododendron* L.) в условиях Беларуси. – Минск: Беларус. навука, 2015. – 269 с.
4. Володько И.К., Альферович Ж.Д. Рододендроны в коллекциях Центрального ботанического сада НАН Беларуси и перспективы их использования в озеленении Беларуси // Состояние и перспективы развития зеленого строительства в Республике Беларусь: тезисы Республиканского научно-практического семинара (г. Минск, 26-27 апр. 2018 г.) / НАН Беларуси, Центр. ботанич. сад НАН Беларуси; редкол.: В.В.Титок [и др.]. – Мн.: Медисонт, 2018. – С.62-65.
5. Злотников А.К., Войнило Н.В. Вирусное заболевание рододендрона (*Rhododendron* L.) // Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира: тез. междунар. науч. конф. – Минск, 2002. – С. 102-103.
6. Методы экспериментальной микологии: Справочник / И.А. Дудка [и др.]; под общ. ред. В.И. Билай. – Киев: Наукова думка, 1982. – 550 с.
7. Index Fungorum. – URL: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. (дата обращения 29.11.2019).

ПОДДЕРЖАНИЕ И ПОПОЛНЕНИЕ ГЕНОФОНДА КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ВИНОДЕЛИЯ «МАГАРАЧ»

Иванова Е.В.

«ВНИИВиВ «Магарач» РАН», Ялта, Республика Крым

Коллекция чистых культур дрожжей для виноделия начала создаваться в 1893 на базе Магарачской энохимической лаборатории, принадлежащей Никитскому ботаническому саду. Лаборатория затем была преобразована в Крымскую зональную станцию, а позже – во Всесоюзный научно-исследовательский институт виноделия и виноградарства «Магарач». В настоящее время коллекция находится в лаборатории микробиологии ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН». Основной задачей коллекции является сохранение и пополнение генофонда культур микроорганизмов виноделия.

Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарач» (КМВ «Магарач») – единственная коллекция, в которой сохраняется генофонд промышленно-ценных штаммов дрожжей, используемых в разное время в отечественном и зарубежном виноделии для производства всех типов вин, в том числе производственные культуры винных дрожжей для хереса и игристых вин. Природные источники, из которых выделено большинство штаммов коллекционного фонда – виноматериалы и вина виноградные и плодоваягодные, виноград, виноградное сусло.

По состоянию на 16.12.2020 г. на хранении в коллекции находится 935 штамма дрожжей (таблица). Общее количество таксономических наименований дрожжевых культур в коллекции представлено 18 родами, 44 видами согласно систематике Кудрявцева В.И. [1], синонимы приведены по систематике Kreger-van Rij [2]. Среди коллекционных дрожжевых культур наиболее многочисленной является группа дрожжей рода *Saccharomyces* – 724 штаммов (77,4%). Сахаромицеты представлены следующими видами (по систематике Кудрявцева): *S. oviformis* – 26%; *S. vini* – 19%; *S. paradoxus* – 7%; *S. cerevisiae* – 6%; *S. uvarum* – 5%; *S. chodatii* – 4%; *S. heterogenicus* – 3%; *S. bayanus* – 2%; *S. chevalieri* – 2%; *S. coreanus* – 2%; *S. globosus* – 1%. Согласно систематике Kreger-van Rij, основное количество сохраняемых штаммов относится к виду *Saccharomyces cerevisiae*. Следующей по численности является группа дрожжей рода *Schizosaccharomyces* – 44 штамма (4,7%), представленная видами (по систематике Кудрявцева): *Shizosaccharomyces acidodevoratus* – 3,2%; *Shizosaccharomyces pombe* – 0,4%; *Shizosaccharomyces japonicus* – 1,1%. По систематике Кригер ван Риж практически все дрожжи-шизосахаромицеты относятся к виду *Shizosaccharomyces pombe*, лишь 6 штаммов из 44 – к виду *Shizosaccharomyces japonicus*. Значительное представительство в коллекции дрожжей-шизосахаромицетов связано с разработкой в отделе технологий проведения процессов кислотопонижения сусла, мезги и виноматериалов для винодельческой промышленности.

В коллекции представлены в незначительном количестве (14,7%) 16 родов дрожжей – вредителей виноделия. Небольшое количество сохраняемых в

этой группе культур идентифицировано только до рода.

Среди огромного количества культур особое внимание привлекают микроорганизмы наиболее востребованные производством. 10 таких штаммов в связи с патентной процедурой депонированы в Коллекции промышленных микроорганизмов ГосНИИ Генетика (г. Москва, Россия), 5 штаммов депонированы в коллекции Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного (г. Киев, Украина).

Чистые культуры дрожжей, хранящиеся в коллекции, являются результатом исследований известных микробиологов-виноделов [3-5]. Изучение метаболизма культур коллекции позволяет проводить селекционную работу, а использование новых высокопродуктивных штаммов – создавать новые технологии и получать новые марки вин.

Имеющиеся в коллекции микроорганизмы используются также для проведения генетических исследований в академических институтах по созданию новых гибридных культур, проводится совместная работа по идентификации новых и реидентификации у коллекционных промышленно ценных штаммов дрожжей. Кроме того, коллекция обеспечивает отрасль чистыми культурами дрожжей. В 2019 г. услугами коллекции воспользовались 12 предприятий винодельческой отрасли (Крым, Адыгея, Краснодарский край, Дагестан). Им предоставлено 14 штаммов дрожжей (79 единиц). Для проведения научных исследований и образовательного процесса в ВУЗах в 2019 г. передано 33 штамма дрожжей различных родов (74 единицы).

В коллекции хранятся 352 штамма дрожжей, переданных другими научными организациями и учреждениями России и Зарубежья с 1930 по 2007 гг.

При хранении в коллекции используется метод перевиваемых культур (субкультивирование) [6]. Штаммы хранятся на жидких (виноградное сусло, тиражная смесь, вино) питательных средах и на плотной (агаризованное солодовое сусло) питательной среде при температуре 10 ± 1 °C; хересные дрожжи и дрожжи для производства игристых вин пересеваются раз в 3 месяца, остальные культуры – раз в 9-12 месяцев.

Изучение жизнеспособности коллекционных штаммов выявило, что практически все штаммы показали хороший рост на питательных средах. Лишь у 13 культур выявили ослабленный рост при пересеве на жидкие питательные среды: 8 культур относятся к роду *Schizosaccharomyces*, 3 культуры – к роду *Candida*, 1 культура – к роду *Saccharomyces*, 1 культура – *Hanseniaspora ariculata*. Выживаемость этих культур была восстановлена при помощи нескольких пассажей на виноградном сусле с постепенным уменьшением количества вносимого посевного материала и дальнейшего роста при наиболее благоприятной температуре 26 ± 1 °C. В настоящее время проводятся работы по перево-

Таблица – Состав коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач»

Наименование рода микроорганизмов	Количество штаммов рода в коллекции	Поступление штаммов в коллекцию в 2019 года
<i>Saccharomyces</i>	721	3
<i>Shizosaccharomyces</i>	34	-
<i>Octosporomyces</i>	6	4
<i>Debariomyces</i>	22	-
<i>Endomyces</i>	2	-
<i>Endoblastomyces</i>	9	-
<i>Fabospora</i>	9	-
<i>Kluyveromyces</i>	4	-
<i>Hansenula</i>	8	8
<i>Hanseniaspora</i>	1	-
<i>Monilia</i>	3	-
<i>Nadsonia</i>	1	-
<i>Pichia</i>	4	5
<i>Rhodotorula</i>	1	2
<i>Saccharomycodes</i>	6	-
<i>Torulopsis</i>	3	-
<i>Zygofabospora</i>	10	-
<i>Zygosaccharomyces</i>	11	1
<i>Candida</i>	41	16
Всего:	896	39

ду коллекции на хранение при температуре минус 860С на среде YPD с глицерином.

Селекционной работе с производственными культурами придается особое значение, поскольку качество готового вина в значительной степени определяется продуктами метаболизма используемых штаммов дрожжей и проведением микробиологического контроля вин при хранении. Основными критериями при оценке целесообразности включения новых штаммов в фонд коллекции являются наличие практических ценных технологических свойств у штамма и сохранение биоразнообразия микроорганизмов виноделия. Особо велико значение используемых рас дрожжей для производства игристых вин и для производства хереса.

Общая численность микроорганизмов в коллекции – 935 штаммов. За последние 5 лет коллекция пополнена тринадцатью селекционированными высокопродуктивными штаммами дрожжей сахаромисцетов, им присвоены номера и они внесены в новую редакцию Каталога в 2019 году.

Электронная версия Каталога (Ялта, 2017 г.) представлена на сайте института «Магарач».

Список литературы

1. Кудрявцев В.И. Систематика дрожжей / М.: Изд-во АН СССР, 1954. – 427 с.
2. Kreger-van Rij N.Y.W. General classification of the yeasts. The yeasts: a taxonomic study // 3 d Ed. N.Y.W. Kreger-van Rij. – Amsterdam, Elsevier Biomedical Press. – 1984. – 670 p.
3. Саенко Н.Ф., Козуб Г.И., Авербух Б.Я., Шур И.М. Вино Херес и технология его производства / Кишинев: Картя Молдовеняске, 1975. – 160 с.
4. Бурьян Н.И. Практическая микробиология виноделия / Симферополь:Таврида, 2003. – 560 с.
5. Технологические правила виноделия / Под ред. Г.Г. Валушко и В.А. Загоруйко. – Симферополь: Таврида, 2006. – т. 1. – С. 105 – 111.
6. Иванова Е.В., Кишковская С.А., Скоринова Т.К., Танащук Т.Н., Шаламитский М.Ю. Инвентаризация и паспортизация культур дрожжей коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач» // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2016. – № 4. – С. 20-23.

**БЕЛОРУССКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ НЕПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ:
КЛЮЧЕВОЙ ЭЛЕМЕНТ ИНФРАСТРУКТУРЫ, НЕОБХОДИМОЙ ДЛЯ РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ
В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

Кантерова А.В., Савчик А.В.

Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск

Крупные национальные коллекции микроорганизмов – центральные депозитарии типовых и промышленно-ценных штаммов – представляют собой важнейший элемент инфраструктуры, обеспечивающий интенсивное развитие биотехнологии. В коллекциях сохраняются штаммы микроорганизмов, генетические ресурсы (геномы, плазмиды, гены, образцы ДНК) и связанная с ними информация с целью облегчения доступа к сохраняемым *ex situ* биологическим ресурсам и гарантии их доступности в процессе разработки и развития инновационных биотехнологий. Важнейшей задачей микробных коллекций, помимо сохранения микробного биоразнообразия, является представление аутентичного биологического материала, необходимого для фундаментальных научных исследований, разработок или непосредственного практического использования.

Выделение новых штаммов микроорганизмов – потенциальных объектов биотехнологии является одним из приоритетных направлений исследований в Республике Беларусь, Российской Федерации и странах Западной Европы. Выделение и изучение бактерий, дрожжевых и мицелиальных грибов, обитающих в природных экосистемах, важно для поиска новых культур с практически ценными свойствами, углубления знаний об экологии, физиологии и генетике микроорганизмов различных таксономических групп. Изоляция и скрининг высокоактивных штаммов – продуцентов биологически активных веществ, антагонистов, деструкторов ксенобиотиков, а также их целенаправленная селекция по интересующему признаку, является необходимым условием развития микробных биотехнологий. Микроорганизмы, изолированные из природных источников, используются для скрининга и выделения генов, кодирующих продукцию биологически активных веществ, ферментов, органических кислот, и последующего создания библиотек генов, необходимых для конструирования генно-инженерных штаммов-продуцентов и сверхпродуцентов.

Всестороннее изучение морфологических, физиолого-биохимических и генетических признаков микроорганизмов, в первую очередь имеющих практическую ценность, необходимо для отбора биотехнологически перспективных культур и определения потенциальных областей их практического использования. Накопление и систематизация полученных сведений о биологических свойствах штаммов и их предоставление потенциальным пользователям облегчает скрининг культур с желаемыми характеристиками и способствует развитию микробных биотехнологий.

Особую ценность представляют микроорганизмы с промышленно-полезными свойствами, к которым проявляется большой коммерческий интерес. Это продуценты различных биологически активных соединений,

деструкторы токсичных органических соединений и др. В Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (БКМ) имеется общедоступный фонд микроорганизмов, откуда пользователи могут получить необходимые штаммы. Фонды, где культуры хранятся по формам «Национальное патентное депонирование» и «Гарантийное хранение» не являются общедоступными, культуры из них можно получить только по специальному разрешению авторов штаммов. Осуществляется обмен культурами с ведущими коллекциями СНГ и стран дальнего зарубежья. Сотрудники БКМ проводят работу по выделению микроорганизмов из природных источников на территории Беларуси. Роль коллекций культур как механизма, гарантирующего не только сохранение микроорганизмов, но и делающего их доступными для изучения и использования в народном хозяйстве, чрезвычайно велика. В последнее время формируется подход к специализированным коллекциям микробных культур, выделяемых на территории государства, как к национальному достоянию, и их изучение имеет особую актуальность.

На протяжении многих лет БКМ сохраняет за собой статус ведущего центра коллекционной работы в Республике Беларусь, где высококвалифицированные микробиологи сохраняют генофонд микроорганизмов *ex situ*, что является одной из основных задач микробиологии. Наряду с проблемами, связанными с гарантией сохранения жизнеспособности и характерных особенностей культур, в коллекции постоянно ведутся исследования, связанные с идентификацией микроорганизмов различных таксономических групп. Сотрудники коллекции постоянно оказывают консультативную помощь по вопросам культивирования и поддержания микроорганизмов, по валидности родовых и видовых названий культур, уточняют списки синонимов. Для подтверждения сохранения диагностических свойств культур различных таксономических групп периодически осуществляется контроль морфологических и физиолого-биохимических свойств микроорганизмов.

На базе БКМ созданы специализированные коллекции микромицетов – агентов биоповреждений строительных материалов и фитопатогенных микроорганизмов. Для создания специализированной коллекции микромицетов – агентов биоповреждений были отобраны и идентифицированы до вида штаммы грибов, которые обладают ярко выраженной деструктивной активностью, хорошо развиваются на питательных средах и искусственно контаминированных фрагментах строительных материалов в лабораторных условиях. Для коллекции микромицетов – агентов биоповреждений отобраны и идентифицированы до вида штаммы грибов, обладающие наибольшей повреждающей активностью в отношении современных строительных отделочных материалов. Культуры относятся к 26 видам родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*,

Cladosporium, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Ulocladium*, *Verticillium* [1]. Все культуры обладают повреждающей способностью в отношении современных строительных отделочных материалов и могут быть использованы в качестве тест-культур при выборе средств биозащиты пролонгированного действия, а так же для ликвидации очагов плесневого поражения.

Специализированная коллекция фитопатогенных микроорганизмов насчитывает более 120 штаммов фитопатогенных грибов и бактерий, депонированных по формам «Хранение» и «Гарантийное хранение». Штаммы являются возбудителями корневых гнилей, гнилей плодов, пятнистостей и других заболеваний основных сельскохозяйственных культур и представлены следующими родами: *Alternaria*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Didymella*, *Diplodia*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gloeosporium*, *Helmintosporium*, *Heterobasidion*, *Monilia*, *Neofabria*, *Penicillium*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Plectosphaerella*, *Pleiochaeta*, *Pleospora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sphaeropsis*, *Verticillium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Serratia*. Исследование биоразнообразия фитопатогенных микроорганизмов и пополнение фонда специализированной коллекции способствует разработке экологически безопасных способов защиты растений от экономически значимых болезней и значительно ускоряет селекционно-генетический процесс по выведению устойчивых сортов. [2]

Штаммы бактерий, мицелиальных и дрожжевых грибов, депонированные в коллекции, могут исполь-

зоваться для приготовления заквасок для силосования растительных субстратов; получения этанола, белка, ферментов, каротиноидов и других биологически активных веществ; производства биоудобрений; получения продуктов функционального питания, в том числе мраморных и плесневых сыров, лечебно-профилактических препаратов, повышающих иммунитет у человека и животных; деструкции ксенобиотиков ароматической природы. Промышленно-ценные микроорганизмы широко используются при налаживании в республике опытно-промышленного производства биологических средств защиты растений, биологически активных добавок, биопрепаратов для силосования кормов.

Список литературы.

1. Кантерова, А.В. Поддержание коллекции мицелиальных грибов – агентов биоповреждений строительных материалов / А.В. Кантерова, Н.В. Бондаревич, Г.И. Новик // Молодёжь в науке–2014: прил. к журн. Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. биол. наук / редкол. серии биол. наук: М.Е. Никифоров [и др.]. – Минск: Беларус. навука, 2015. – С. 40–42.
2. Развитие специализированной коллекции фитопатогенных микроорганизмов / А.В. Кантерова [и др.] // «Экологический вестник». Научно-практический журнал МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, 2016 – Т. 3(37). – С. 28–34.

МИКРОМИЦЕТЫ ВОСТОЧНОЙ ПАЛЕАРКТИКИ В КОЛЛЕКЦИИ «ГКПМ-ОБОЛЕНСК»

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

¹Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

³Научно-производственный центр «МикроМир», Любучаны

Микроскопические грибы привлекают всё большее внимание биотехнологов в качестве продуцентов биологически активных природных соединений. Для вовлечения в биотехнологию новых продуцентов микробного синтеза необходимо проводить поиск микромицетов в природе, выделять их в чистую культуру, изучать различные свойства, разрабатывать методы культивирования штаммов, получать грибные метаболиты, разрабатывать биопрепараты целевого назначения, создавать коллекции биотехнологически значимых видов и штаммов грибов.

Для изучения ресурса микромицетов на территории Восточной Палеарктики ГНЦПМБ организовал проведение 12 микологических экспедиций. Микологическими обследованиями были охвачены различные по природно-климатическим условиям регионы России, Украины и Белоруссии: от Мурманской области до Крымского полуострова и Абхазии в широтном направлении; от Белоруссии и Северо-Западных областей России до Курильских островов в долготном направлении. Поиском микромицетов были охваче-

ны, в основном, территории заповедников и регионы, характеризующиеся наибольшим биологическим разнообразием: Алтайский край, Приморский край («Лазовский государственный природный заповедник им. Л.Г. Капланова», заповедники «Кедровая Падь» и «Уссурийский»); Курильские острова (Государственный природный заповедник «Курильский»); Краснодарский край («Сочинский национальный парк», восточный отдел «Кавказского заповедника», долины рек «Малая Лаба», «Уруштен», «Ходзь»); Карачаево-Черкесия (долина реки «Большая Лаба», окрестности Архыза); Абхазия («Рицинский заповедник», Ткуарчалский район, окрестности городов Сухуми и Гагра); Астраханская область («Астраханский заповедник»); Полуостров Крым («Крымский природный заповедник», склоны Главной гряды Крымских гор в Бахчисарайском, Ялтинском и Алуштинском районах); Украина (заповедник «Аскания-Нова», «Присамарский международный стационар» Днепропетровского национального университета); Белоруссия (заповедник «Беловежская Пуща»).

В дальнейшем коллекцию пополнили изолятами из микологических образцов, собранных в Красноярском крае, Московской, Тверской, Ленинградской, Костромской, Ростовской областях, Башкирии, Бурятии, Якутии. Сбор членистоногих, пораженных микозами, проводили в индивидуальные стерильные стеклянные трубки, закрытые с двух сторон ватой для сохранения воздухообмена и предотвращения заплесневения и контаминации посторонней микрофлорой в процессе транспортировки. Полевые образцы, перед выделением из них грибов, фотографировали на экспедиционной базе в день сбора. Затем, с соблюдением стерильности, иглой снимали конидии с образцов насекомых или грибных стром и инокулировали на твердую питательную среду в чашки Петри. Посевы инкубировали в термостате при температуре $(24 \pm 0,5)$ °C в течение 10 – 20 дней до массового спорообразования. Чашки ежедневно просматривали, микроскопировали, и, в случае появления контаминации, производили пересев на свежую питательную среду. При этом аккуратно вырезали иглой с длинной ручкой маленький кусочек агара (3–4) × (3–4) мм с мицелием гриба и перемещали его на другую чашку Петри или пробирку со скошенным агаром, перевернув поверхность мицелием вниз и слегка прижимая к поверхности агара

Отбор почвенных образцов проводили следующим образом. Образцы почвы весом не менее 30 г. отбирали из верхнего горизонта почвы и подстилки. До обработки образцы хранили в высушенном состоянии. Выделение микромицетов из собранных образцов проводили методом посева из серийных разведений на

агаризованные питательные среды в модификации Д.Г. Звягинцева.

При проведении работ по поиску и изолированию микромицетов было установлено, что традиционные грибные среды Сабуро и Чапека далеко не всегда обеспечивают получение изолятов в полевых условиях. Для повышения эффективности работ по выделению грибов из полевых образцов и дальнейшего культивирования штаммов была предложена и апробирована модифицированная микологическая среда (ММС). Эта питательная среда позволила увеличить результативность выделения грибов в полевых условиях с 10–20% до 56–74%. [1].

В результате поиска, выделения и идентификации грибов создана рабочая коллекция микромицетов. На сегодняшний день общий номенклатурный объем коллекции составляет 1576 штаммов, относящихся к 419 видам 132 родов. Все штаммы грибов паспортизованы. Коллекция микромицетов является составной частью общей государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ – Оболенск».

Дано описание микромицетов по схеме: таксоны; коллекционный номер; номер штамма; авторство изолята, выделения изолята в чистую культуру, идентификация культуры; микологический образец, его местонахождение и дата; антагонистические свойства штамма.

К коллекции микромицетов Восточной Палеарктики проявлен интерес со стороны американской коллекции энтомопатогенных грибов USDA /ARSEF, в которую по запросу американской стороны передано 148 штаммов (<http://arsef.fpsnl.cornell.edu>).

Таблица 1 – Отделы грибов, представленные в коллекции «ГКПМ-Оболенск»

Отдел грибов	Количество		
	Родов	Видов	Штаммов
<i>Mucoromycota</i>	4	7	12
<i>Ascomycota</i> (анаморфы)	128	412	1564
Всего	132	419	1576

Таблица 2 – Сравнение развития микромицетов на разных питательных средах

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

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

Таблица 3 – Жизнеспособность микромицетов, хранившихся разными способами.

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

Примечание: (+) наличие роста; (-) отсутствие роста

В процессе работы по созданию и поддержанию коллекции микромицетов использовали среду ММС, которая является достаточно богатой и стандартизованной питательной средой. Состав среды (г/л): NaNO_3 — 2,0; KCl — 0,5; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,01; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5; KH_2PO_4 — 1,0; глюкоза — 10,0; мальтоза — 10,0; мясной пептон — 5,0; дрожжевой экстракт — 5,0; бактериальный агар — 15,0; гентамицин — 0,04 мг/мл. Конечное значение pH — $7,3 \pm 0,2$. Гентамицин не оказывал влияния на рост и развитие грибов, и в то же время эффективно подавлял рост бактерий. При проверке грибов на антагонистическую активность тестируемые грибы выращивали на среде ММС без добавления гентамицина. [2].

Для изучения роста и развития микромицетов на различных питательных средах проводили сравнение классических сред: Чапека и Сабуро с разработанной средой ММС. Грибы разных групп одновременно высеяли на каждую питательную среду (по 3 чашки для каждого штамма), инкубировали в термостате при ($24 \pm 0,5$) °C и ежедневно вели наблюдение за развитием грибов, отмечая рост грибной биомассы и сроки образования конидий и спор. Полученные результаты представлены в таблице 2

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

Таким образом, среда ММС обеспечивает наращивание биомассы грибов и одновременно способствует их быстрой споруляции, позволяя в короткие сроки получить достаточное количество спор, необходимое для закладки культуры на длительное хранение. [3].

С целью обеспечения долговременной сохранности культур грибов сравнивали разные способы: криоконсервация при минус 80°C, сублимационное высушивание, хранение под минеральным маслом, в дистиллированной воде, на ионообменной смоле. В процессе работы выяснили, что самой оптимальной для консервации культур является стадия массового спорообразования. Для большинства анаморфных грибов при культивировании их на твёрдых питательных средах, она наступает на 10 – 14 сутки. Конидии анаморфных

грибов в течение длительного времени успешно сохраняются всеми описанными способами. Вместе с тем, способ контактно-сорбционного обезвоживания (КСО) культур грибов с применением ионообменной смолы, заслуживает более пристального внимания.

В ходе исследований мы использовали методику КСО, разработанную сотрудниками ГНЦ ПМБ для хранения бактериальных культур (Пат. SU 1831498 АЗ, 1991). В работе использовали ионообменную смолу марки КБ4-П2 с высокой влагоёмкостью. Проверили жизнеспособность 166 штаммов мицелиальных грибов, относящихся к 56 видам 31 рода при разных сроках хранения (от 5 до 18 лет). Все исследованные культуры сохранили жизнеспособность в течение всех сроков наблюдения. Способ КСО с применением ионообменной смолы имеет ряд преимуществ: низкая себестоимость, так как метод не требует применения дорогостоящего оборудования; возможность хранения при температуре +4°C; компактность хранящегося материала; длительность промежутков между повторными закладками на новые сроки хранения; удобство при пересылке культур [4]. Простота метода позволяет использовать его в полевых условиях. Показана также возможность применения этого метода для длительного хранения (не менее 3,5 лет) аскоспор рода *Cordyceps*, собранных в полевых условиях.

Таким образом, способ контактно-сорбционного обезвоживания культур грибов с применением ионообменной смолы, наряду с хранением на силикагеле, может быть успешно использован для длительного сохранения многих видов грибов. На ионообменной смоле в коллекции «ГКПМ-Оболensk» хранятся культуры 120 видов 61 рода.

Для выявления биотехнологического потенциала коллекционных культур грибов изучали активность ряда штаммов на тест-объектах эпизоотологического сельскохозяйственного и фармакологического значения. С этой целью протестировано свыше 500 штаммов микромицетов. Установлено наличие явно выраженных антагонистических свойств у 60% протестированных штаммов в отношении кровососущих комаров, фитофагов, фитопатогенных бактерий и нематод [5, 6]. Выявлены штаммы микромицетов, обладающие высокой активностью в отношении болезнетворных микробов, в том числе против возбудителей госпитальных инфекций [7,8,9] и особо опасных патогенов человека и животных [10,11,12].

Список литературы

1. Володина Л.И. Полевые сборы и выделение в культуру микромицетов-потенциальных продуцентов биологически активных веществ / Л.И. Володина, В.Е. Лиховидов, Ф.Ш. Исангалин, А.Н. Наумов. // Матер. VII межгосуд. научн.-практ. конф. государств-участников СНГ: «Чрезвычайные ситуации международного значения в общественном здравоохранении в решениях Санкт-Петербургского саммита «Группы восьми» и санитарная охрана территорий государств-участников СНГ». – Оболensk. – 2006. – С. 189-190.
2. Лиховидов В.Е. Микромицеты как потенциальные агенты биоконтроля возбудителей особо опасных инфекций. / Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А. // Экологичные средства борьбы с патогенами человека, животных и растений / Под редакцией акад. И.А. Дятлова. – М: ООО Буки Веди. – 2019. – С. 121 – 140.
3. Юскевич В.В. Формирование коллекции природных микромицетов и выявление штаммов с антибактериальными и москитоцидными свойствами // Автореф. канд. дисс. – Оболensk, 2012. – 26 с.
4. Юскевич В.В. Применение контактно-сорбционного обезвоживания для длительного хранения микромицетов разных таксономических групп. / Юскевич В.В., Володина Л.И., Александрова А.В., Лиховидов В.Е., Баранов А.М. // Микология и фитопатология. – 2011. – Т. 45, вып. 6. – С. 535-540.
5. Лиховидов В.Е. Коллекция энтомопатогенных грибов ГНЦ ПМБ и ее научный потенциал для разработки новых биопестицидов / Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Наумов А.Н. // Информационный бюллетень ВПРС МОББ, № 40. -Материалы докладов международного симпозиума. – Кишинев. – 2009. – С. 243-244.
6. Лиховидов В.Е. Научный потенциал коллекции микромицетов «ГКПМ – Оболensk» для разработки новых биопестицидов и биомоскитоцидов. / В.Е. Лиховидов, Л.И. Володина, А.Н. Наумов, Е.В. Быстрова, В.В. Юскевич // Матер. междунар. научн.-практ. конф. «Интегрированная защита растений: стратегия и тактика». Минск. – 2011. – С. 288-290.
7. Лиховидов В.Е. Антагонистическая активность штаммов мицелиальных грибов в отношении возбудителя кандидоза *Candida albicans* / Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Юскевич В.В., Александрова А.В., Быстрова Е.В. // Успехи медицинской микологии. – 2013. –Т. XI. –С. 324-326.
8. Лиховидов В.Е. Антимикробная активность штаммов микромицетов в отношении возбудителей госпитальных инфекций / Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Быстрова Е.В., Храмов М.В. // Современная микология в России. – 2017. – Т VII. – С. 242 – 245.
9. Лиховидов В.Е. Антикандидозная активность штаммов микромицетов. из коллекции «ГКПМ – Оболensk». / Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Храмов М.В. // Успехи медицинской микологии. – 2019. –Т. XX. С. 425-430.
10. Лиховидов В.Е. Оценка мицелиальных грибов и их субстанций на активность в отношении возбудителя туляремии. / Лиховидов В.Е., Мокриевич А.Н., Вахромеева Г.М., Павлов В.М., Юскевич В.В., Володина Л.И. // Успехи медицинской микологии. – 2014. –Т. XII. – С. 318-320.
11. Лиховидов В.Е. Антибактериальная активность субстанций мицелиальных грибов в отношении возбудителя сибирской язвы. / Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Храмов М.В., Быстрова Е.В. // Успехи медицинской микологии. – 2015. – Т.XIV. – С. 437-441.
12. Лиховидов В.Е. Почвенные микромицеты как потенциальные агенты биоконтроля сибиреязвенного микроба в природных очагах его распространения. / Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Храмов М.В., Быстрова Е.В. // Успехи медицинской микологии. – 2016. – Т.XVI. – С. 71-78.

КОЛЛЕКЦИЯ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПТОРИОЗА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ВО ВСЕРОССИЙСКОМ НИИ ФИТОПАТОЛОГИИ

Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н., Куркова Н.А., Коломиец Т.М.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, р.п. Большие Вяземы

На базе Всероссийского НИИ фитопатологии (ВНИИФ) создана и существует Государственная Коллекция фитопатогенных микроорганизмов (ГКФМ). В числе других в ней хранятся штаммы основных видов возбудителей септориоза пшеницы и ячменя: *Stagonospora nodorum* [Berk.] Castellani and E. G. Germano, *Septoria tritici* Rob. et Desm. и *Stagonospora avenae* Bissett f. sp. *triticea* T. Johnson.

Формирование коллекции штаммов возбудителей септориоза было начато во ВНИИФ в 1981 г. Основной целью на тот момент было обеспечение селекционных центров и государственных сортоиспытательных станций, расположенных в разных агроклиматических

зонах, необходимым количеством биоматериала для создания искусственного инфекционного фона при испытании сортов на устойчивость к септориозу. Септориоз является опасной и экономически значимой болезнью для российских сельхозпроизводителей и в настоящее время по-прежнему занимает доминирующее положение среди вредоносных грибных болезней в большинстве регионов Российской Федерации. В эпифитотийные годы потери урожая могут достигать 40% (1).

Возбудители септориоза обладают большим потенциалом генетической изменчивости, благодаря наличию половой репродукции. Разные генотипы часто обнуживаются на одном и том же листе и даже внутри

одного пятна. Большая внутривидовая изменчивость септориальных грибов способствует возникновению новых агрессивных форм с повышенной вирулентностью. В связи с этим, необходим постоянный мониторинг видовой и внутривидовой структуры популяций *Septoria/Stagonospora* с последующим выделением штаммов с целью обновления и обогащения коллекционного фонда новыми образцами.

Выделение новых изолятов осуществляется из пораженных растений, собранных во время ежегодных обследований посевов зерновых культур в различных агроклиматических зонах страны. При выделении гриба в чистую культуру обязательно учитывают сорт растения-хозяина, поскольку разные по устойчивости сорта могут отбирать разные генотипы со специфичной вирулентностью к этим сортам. Отбор штаммов в состав коллекции проводится после изучения их основных свойств: культурально-морфологических признаков, репродуктивной способности на питательной среде, патогенности, расовой принадлежности и генотипа вирулентности. В коллекцию отбираются штаммы, представляющие наибольший интерес для научных и практических исследований.

При выделении гриба в чистую культуру в качестве питательной среды используют картофельно-глюкозный агар (КГА), как наиболее универсальную для всех видов септории. Выделение гриба проводят в стерильных условиях, используя метод «штрихов». Через 4-5 (*S. nodorum*) или 7-8 (*S. tritici*) суток инкубации единичные моноспоровые колонии пересевают в отдельные чашки Петри. Чашки с колониями *S. nodorum* инкубируют при дополнительном освещении эритемными лампами ЛЭ-30, стимулирующими споруляцию.

Описание культурально-морфологических (КМ) признаков изолятов проводят на 20-й (*S. nodorum* и *S. avenae triticea*) или 30-й (*S. tritici*) день, отмечая размер, характер строения и окраску колоний. Всего различают 7 морфотипов колоний изолятов *S. nodorum*, 10 морфотипов – *S. tritici*, 4 морфотипа – *S. avenae triticea* (2, 3, 4). Непременным условием для отбора штаммов в состав коллекции является стабильность их КМ-признаков, которую отслеживают путем трех последовательных пересевов 10-дневных моноспоровых колоний на свежую питательную среду.

Важным свойством культуры является ее репродуктивная способность на питательной среде. Для изолятов *S. nodorum* достаточно высокой считается интенсивность споруляции более 1 млн.спор/см² площади колонии, для изолятов *S. tritici* – более 10 млн.спор/см² площади колонии (2).

Оценку патогенности изолятов возбудителей септориоза проводят на сортах-дифференциаторах в фазу 2-х листьев в камерах искусственного климата или в теплице. Патогенность определяют по средней степени поражения тестового набора сортов. Изоляты *S. nodorum* и *S. avenae triticea* дифференцируют на: I – слабопатогенные (средняя пораженность тест-сортов менее 20%); II – среднепатогенные (21-50%); III – высокопатогенные (более 50%). Патогенность изолятов *S. tritici* определяют на основе двух показателей – степени поражения растений и интенсивности спо-

руляции *in vivo*. Для этого срезанные учетные листья помещают в сосуды с известным количеством воды на 3-4 часа, затем с помощью камеры Горяева определяют количество спор в суспензии в пересчете на один учетный лист (5).

В последнее время при отборе штаммов *S. tritici* дополнительно оценивается такой показатель как генотип вирулентности. Как известно устойчивость к этому виду гриба является изолят-специфичной (6). Кроме того, в результате генетического анализа взаимодействия хозяина и патогена было доказано наличие связи ген-на-ген (7). Для определения генотипа вирулентности изолятов *S. tritici* используют сорта и линии пшеницы с известными генами устойчивости: Bulgaria (*Stb1*), Oasis (*Stb1*), Veranopolis (*Stb2*), Israel 493 (*Stb3*), Tadinia (*Stb4*), CS/Synthetic 7D (*Stb5*), Flame (*Stb6*), Estanzuela Federal (*Stb7*) и W7984 (*Stb8*). Вирулентность определяют по двум показателям – степени поражения 2-х листьев и споруляции гриба *in vivo*. Поскольку иммунитета (полной устойчивости) к *S. tritici* практически не существует, так как некрозы и/или пикниды присутствуют всегда (8), то границу между вирулентностью и авирулентностью определяют следующим образом: вирулентными считают изоляты II и III группы, авирулентными – изоляты I группы (9).

Штаммы, отобранные в состав коллекции, отсевают в пробирки и закладывают на хранение. Чтобы свести к минимуму риск потери штамма для длительного хранения культур применяется несколько способов: лиофилизация, хранение в стерильной почве, хранение на гербарных образцах (10).

При формировании коллекции культур возбудителей септориоза учитывается экономическое значение видов, их ареалы распространения и частота встречаемости в различных регионах России. В первую очередь в состав коллекции включают штаммы наиболее вредоносных и широко распространенных видов возбудителей септориоза, которые наиболее востребованы для проведения иммунологических испытаний. Коллекционные штаммы должны быть по возможности представлены из всех агроклиматических зон и зернопроизводящих регионов, где эти виды встречаются, поскольку обязательным требованием при использовании штаммов в полевых испытаниях является их географическое соответствие тому региону, где проводятся испытания.

На сегодняшний день Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ включает 353 штамма возбудителей септориоза, выделенных из 10 регионов РФ, а также из Украины, Беларуси, Молдовы, Казахстана и республик Прибалтики. Из них 116 штаммов *S. nodorum*, выделенных с пшеницы и ячменя, 235 штаммов *S. tritici*, выделенных с пшеницы и 2 штамма *S. avenae* f. sp. *triticea*, выделенных с пшеницы (Таблица).

Наиболее широкий набор штаммов *S. tritici* представлен из Центрального, Северо-Кавказского, Центрально-Черноземного и Северо-Западного регионов. Достаточно большое число штаммов включено в коллекцию из Поволжского и Волго-Вятского регионов. Больше всего штаммов *S. nodorum* выделено из Центрального района. В последние годы был расширен

Таблица – Количество штаммов *Septoria/Stagonospora* в Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ из разных областей России и зарубежья

Вид <i>Septoria/Stagonospora</i>	Происхождение (регион РФ, страна)	Число штаммов, имеющихся в коллекции
<i>S. tritici</i>	Центральный	37
	Северо-Кавказский	53
	Северо-Западный	34
	Центрально-Черноземный	50
	Поволжский	23
	Волго-Вятский	14
	Калининградская область	7
	Западно-Сибирский	6
	Украина	3
	Казахстан	8
<i>S. nodorum</i> (пшеница)	Центральный	34
	Северо-Кавказский	7
	Северо-Западный	5
	Северный	7
	Поволжский	10
	Западно-Сибирский	17
	Восточно-Сибирский	3
	Дальневосточный	2
	Украина	5
	Беларусь	1
	Молдова	3
	Прибалтика	6
	Казахстан	7
<i>S. nodorum</i> (ячмень)	Центральный	4
	Северо-Западный	1
	Северный	1
	Прибалтика	1
	Беларусь	2
<i>S. avenae triticea</i>	Северо-Кавказский	1
	Восточно-Сибирский	1

набор штаммов этого вида из Поволжского и Западно-Сибирского районов.

В настоящее время коллекция штаммов возбудителей септориоза в первую очередь представляет собой базу для обеспечения проведения иммунологических исследований как внутри института, так и в других учреждениях, работающих в области селекции. Патогенные штаммы наиболее вредоносных видов используются для создания искусственного инфекционного фона при оценке устойчивости сортов. Помимо иммунологических исследований штаммы возбудителей септориоза используются при разработке химических методов защиты растений и оценки эффективности фунгицидов. Кроме прикладного использования существующая коллекция культур возбудителей септориоза может служить источником генетически разнообразных патотипов в фундаментальных научных молекулярно-генетических исследованиях для реше-

ния задач популяционной генетики, таксономии, систематики, идентификации и т.д.

Список литературы

1. Санин С.С., Санина А.А., Мотовилин А.А., Пахолкова Е.В., Корнева Л.Г., Жохова Т.П. и соавт. Защита пшеницы от септориоза. Приложение к журналу «Защита и карантин растений», №4, 2012.
2. Пыжикова Г. В., Санина А. А., Супрун Л. М., Курахтанова Т. И., Гогавя Т. И., Мепаришвили С. У., Анциферова Л. В., Кузнецов Н. С., Игнатов А. Н., Кузьмичев А. А. Методы оценки устойчивости селекционного материала и сортов пшеницы к септориозу. Метод. указ. М. 1989. 43 стр.
3. Санина А.А. Физиологическая специализация *S. tritici* Rob. et Desm. – Микология и фитопатология – 1991, т. 25. вып. 4, с. 338-341.
4. Санина А.А., Пахолкова Е.В. Видовая структура популяций возбудителей септориоза пшеницы в раз-

- личных регионах России. // Сборник трудов I-го съезда микологов России, Москва, 2002, Разд. 7, с.221.
5. Санина А.А., Анциферова Л.В. Определение патогенных свойств изолятов *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. и *S. tritici* Rob. et Desm. на пшенице. Микология и фитопатология, 1991, т. 25, вып. 2, стр.155-159.
 6. Eyal Z., Amari Z. and Whal I. Physiological Specialization of *Septoria tritici*. Phytopathology, 1973, 63: 1087-1091.
 7. Brading P.A., Verstappen E.C.P., Kema G.H.J., Brown K.M. A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the *Septoria tritici* blotch pathogen. Phytopathology, 2002, 92: 439-445.
 8. Nelson L.R. and Marshall D. Breeding for resistance to *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*. Adv. Agron. 1990, 44, 257-277.
 9. Пахолкова Е.В., Сальникова Н.Н., Куркова Н.А. «Генетическая структура региональных популяций *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) – возбудителя септориоза пшеницы». Сельскохозяйственная биология, 2016, том 51, №5, стр. 722-730.
 10. Pakholkova E.V., Salnikova N.N., Kurkova N.A., Kolomiets T.M., Kiseleva M.I. Pathogenic Strains Storage of the Main Causative Agents of Cereals Crops Septorioses (Leaf Spot) in The State Collection of Phytopathogenic Microorganisms in All-Russian Research Institute of Phytopathology. International Journal of Pharmaceutical & Allied Sciences, 2017, 6 (4): 123-130.

ПРОБЛЕМЫ СОХРАННОСТИ УЧЕБНОГО ГЕРБАРИЯ ЛИХЕНИЗИРОВАННЫХ ГРИБОВ

Пчелкин А.В.

Институт географии РАН, Москва

Основой практически всех лихенологических исследований, как флористических, так и мониторинговых и биоиндикационных, является способность экспериментатора обладать навыками видовой идентификации, основы которых студенты учебных заведений биологического профиля получают на практикумах по лихенологии. Важное значение при этом уделяется качеству наглядного материала, который собирают в полевых условиях. Особых трудностей при сборе лихенизированных грибов (лишайников), как правило, не возникает. Здесь уместно процитировать А.А. Еленкина, который более 100 лет назад заметил: «Что же касается способов собирания и консервирования лишайников, то это дело настолько простое и само собой понятное, что вряд ли может представить какие-либо серьезные затруднения для коллектора» [1]. В дополнение к этому можно только заметить, что в те времена еще не использовали полиэтиленовые пакеты, собирать в которые лишайники если еще допустимо, то хранить влажные образцы нельзя категорически. Хранение гербарных образцов при низкой влажности не позволяет развиваться плесени, а наличие вторичных метаболитов в талломах лишайников защищает от насекомых, таких как *Cryptolestes ferrugineus*, *Lasioderma serricornis*, *Tribolium confusum*, *oryzaeophilus surinamesis*, видов р. *Ephlesia* и др. Особой разницы между учебным и научным гербариями лишайников нет, за исключением того, что учебные образцы лишайников испытывают гораздо более сильную механическую нагрузку, что приводит к повреждению образцов, тем более, что нередко студенты не всегда бережно относятся к учебному гербарии. В процессе эксплуатации сильно повреждаются талломы лишайников из р. *Cladonia*, *Peltigera*, эпигейные виды р. *Cetraria* и др. Особенно это относится к кустистым эпигейным видам. Повысить прочность талломов можно различными способами, обработанные талломы лишайников можно встретить в продаже под названием «стабилизированный мох» или

«стабилизированный ягель», стоимость от 2000 руб. до 5000 руб. за 1 кг. Особенно часто используют *Cladonia stellaris* и *Cladonia arbuscula*. В настоящее время существуют различные способы консервации растительного материала, сохраняющих свойства свежесобранных растений. Из них наибольший интерес представляют минерально-солевая консервация (срок эксплуатации растений более 10 лет) и жидкостная консервация на основе глицерина (срок эксплуатации около 10 лет). Обработанные талломы лишайников при этом сохраняют эластичность свежесобранных и не крошатся в процессе эксплуатации. Но если для аранжировки достаточно только прочностных характеристик стабилизированных лишайников (тем более, что часто в продажу они поступают окрашенными в различные цвета анилиновыми красителями), то для учебного процесса важно не только сохранение естественного цвета талломов, но и их химические реакции с веществами, используемыми для видовой идентификации. Для занятий по лихенологии нами были проведены исследования по повышению прочностных свойств лишайников. Для краш-теста использовали талломы кустистых эпигейных лишайников: *Cladonia arbuscula*, *Cladonia stellaris* (Opiz) Pouzar & Vězda, *Cladonia uncialis* (L.) Weber ex F.H.Wigg., *Stereocaulon alpinum* Laurer. Для взвешивания использовали аналитические торсионные весы TECHNIPROT WAGA TORSYINA-WT с точностью взвешивания 1 мг. Было отмечено, что стабилизация в десятки раз повышает прочность талломов за счет увеличения их эластичности. Использование лишайников, стабилизированных глицериновой пропиткой показало их эффективность в учебной практике: по 5-балльной шкале (по удобству изучения морфологии, прочностным свойствам, проведению химических реакций) студенты оценивали такие талломы на 25-30% выше, чем контрольные, лиофилизированные воздушной сушкой [2]. Для ряда видов стабилизация не препятствовала проведению химических реакций, используемых при идентификации лишайников в

Таблица – Результаты сравнительных химических тестов

Вид лишайника, талломы: (S) – контроль; (G)- глицериновая и (M) – минерально-солевая стабилизация	Цветная реакция с реагентом					Примечание
	K	KC	C	Pd	I	
<i>Cladonia rangiferina</i> (S)				+		Проявляется медленнее у (G,M)
<i>Cladonia rangiferina</i> (G,M)*				+		
<i>Caloplaca pyracea</i> (S)	+					Немного слабее у (M)
<i>Caloplaca pyracea</i> (G,M)	+					
<i>Нурocenomyce scalaris</i> (S)			+			Слабее у талломов (G,M) и медленнее
<i>Нурocenomyce scalaris</i> (G,M)**			+			
<i>Нурогymnia physodes</i> – таллом (S)	+					
<i>Нурогymnia physodes</i> – таллом (G,M)	+					
<i>Нурогymnia physodes</i> – сердцевина (S)				+		
<i>Нурогymnia physodes</i> – сердцевина (G,M)				+		
<i>Parmelia saxatilis</i> – таллом (S)	+					
<i>Parmelia saxatilis</i> – таллом (G)	+					
<i>Parmelia saxatilis</i> – сердцевина (S)	+					
<i>Parmelia saxatilis</i> – сердцевина (G)	+					
<i>Parmelia sulcata</i> – таллом (S)	+					
<i>Parmelia sulcata</i> – таллом (M)	+					
<i>Parmelia sulcata</i> – сердцевина (S)	+			+		
<i>Parmelia sulcata</i> – сердцевина (M)***	+			+		
<i>Platismatia glauca</i> (S)					+	Немного слабее и мед- леннее у (G)
<i>Platismatia glauca</i> (G,M)					+	
<i>Pseudevernia furfuracea</i> – таллом (S)	+	+		+		
<i>Pseudevernia furfuracea</i> (G,M) – таллом	+	+		+		
<i>Pseudevernia furfuracea</i> – сердцевина (S)		+	+			
<i>Pseudevernia furfuracea</i> – сердцевина (G,M)		+	+			
<i>Stereocaulon alpinum</i> (S)				+		
<i>Stereocaulon alpinum</i> (G,M)				+		
<i>Xanthoria parietina</i> (S)	+					Немного слабее у (M)
<i>Xanthoria parietina</i> (G,M)****	+					

S – реакция с хлором; K – реакция с гидроокисью калия KOH; Pd – реакция с парафенилендиамином;

I – реакция с иодом; KC – реакция с KOH и затем с хлором.

* – при снижении концентрации глицерина до 15% реакция хорошо выражена, практически, как и у контрольных образцов, при этом красно-оранжевое окрашивание хорошо сохраняется и такие образцы можно использовать в качестве наглядных пособий; *

* – реакция хорошо видна на соредиозных участках и сердцевине с глицериновой пропиткой и слабее с минерально-солевой пропиткой на основе формиата и ацетата калия;

*** – минеральная пропитка дает желтое окрашивание на некоторые участки сердцевины при непосредственном попадании;

**** – талломы после минеральной пропитки зеленые с желтовато-оранжевым оттенком, реакция с KOH – темно-вишневое окрашивание (по-видимому, зависит от концентрации париетина, – если лишайник произрастал на освещенной поверхности, то пропитка слабо влияла на изменение цвета таллома – так, образец *Xanthoria parietina*, собранный с солнечной стороны ствола, практически не изменил окраску после пропитки, реакция с KOH характерна для вида).

лихенологической практике. Как правило, химическая реакция у стабилизированных лишайников либо не отличалась от таковой у нестабилизированных, либо была выражена немного слабее. В таблице 1 показаны результаты сравнительных химических тестов талломы лишайников, стабилизированных пропитками: минерально-солевой на основе 25-30% водных растворов формиата калия, ацетата калия (M), жидкостной на основе 25-30% водного раствора глицерина (G) и

воздушно-сухих контрольных (S) талломы на наиболее распространенные в идентификации лишайников химические реагенты. Поскольку глицериновая и минерально-солевая стабилизации показали сходные результаты, они объединены в таблице.

Хорошие результаты дает стабилизация для видов из р. *Cladonia*, *Stereocaulon*, *Peltigera*, *Platismatia*, *Phaeophyscia*, *Physconia*, *Dermatocarpon* темноокрашенных видов р. *Bryoria*, *Cetraria*, и др. Однако следует отметить, что

стабилизация образцов для учебной лихенологической практики пригодна не для всех видов лишайников. Так, ярко-красные апотеции *Cladonia bellidiflora*, *Cladonia coccifera* после пропитки стабилизирующими составами со временем меняют свой цвет на красно-коричневый. Некоторые минерально-солевые составы для пропитки талломов обладают повышенной щелочной реакцией. Так, минерально-солевою пропитку не рекомендуется применять для видов из р. *Usnea*, *Ramalina*. Светлые талломы этих видов после обработки, хотя и становятся эластичными, но быстро окрашиваются в розоватый или оранжево-желтый цвет. Минерально-солевая стабилизация может вызывать пожелтение талломов *Parmelia sulcata*, *Parmelia saxatilis*. Глицериновая стабилизация, хотя и в меньшей степени, но также может изменять окраску этих лишайников. Поэтому рекомендуется, прежде чем начать обработку большого количества материала для учебного гербария, провести предварительную проверку на небольших талломах.

Исследования выполнены в рамках темы НИР по Плану Фундаментальных научных исследований государственных академий наук № 0148-2019-0009, АААА-А19-119022190173-2 «Изменение климата и их последствия для окружающей среды и жизнедеятельности населения на территории России».

Список литературы:

1. Еленкин А.А. Флора лишайников Средней России. Ч.1. Издание естественно-исторического музея графини Е.П. Шереметевой в с. Михайловском, Московской губ., Юрьев, 1906, 184 с.
2. Пчелкин А.В. Использование стабилизированных лишайников в учебном процессе – Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический, издательство Изд-во Моск. ун-та М., 2019, т. 124, № 4, с. 48-54.

ПОПОЛНЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННОГО ФОНДА ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ БЕЛОРУССКОЙ КОЛЛЕКЦИИ НЕПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Савчик А.В., Кантерова А.В., Ладутько Е.И., Леонович С.И.

«Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси», Минск

Дрожжевые грибы – группа высших одноклеточных грибов, размножающаяся делением или почкованием [1]. Дрожжи широко распространены в природе и наиболее часто встречаются в богатых источниками углерода субстратах: на плодах, в нектаре цветов, в соке гниения деревьев, на разлагающихся остатках растений, в почве, в воде и т.д. Первая классификация дрожжей была предложена в XIX веке, с присвоением дрожжевым грибам родового названия *Saccharomyces* [2]. В настоящее время описано около 1,5 тыс. видов дрожжей, относящихся к отделам *Ascomycota* и *Basidiomycota*. Типичным представителем отдела *Ascomycota* являются дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae*, представляющие собой клетки округлой или овальной формы, образующие аскоспоры в одиночных клетках. Аскомицетными дрожжевыми грибами являются дрожжи родов *Schizosaccharomyces*, *Kluveromyces*, *Zygosaccharomyces*, *Dekkera*, *Lipomices*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Saccharomycopsis*, *Dothiora* и др. К отделу *Basidiomycota* относятся дрожжевые грибы родов *Rhodotorula*, *Papilioterma*, *Rhodospiridium*, *Filobasidium*, *Rhodospiridiobolus*, *Cystofilobasidium*, *Filobasidiella*, *Xanthophyllomyces*, *Holtermannia*, *Bullera*, *Cryptococcus*, *Bensingtonia*, *Sporobolomyces* и др. Для дрожжей отдела *Basidiomycota* характерен базидиомицетный жизненный цикл с образованием базидиоспор [3].

Синтез различных биологически активных веществ (БАВ) с помощью микроорганизмов – микробиологический синтез, является основой большинства биотехнологических процессов. В качестве объектов биотехнологии микробного синтеза широкое применение получили бактерии, мицелиальные грибы, микроскопические водоросли и дрожжи.

С экономической и экологической точек зрения, лучшими продуцентами БАВ являются дрожжи, поскольку

они обладают некоторыми преимуществами по сравнению с другими микроорганизмами, объектами биотехнологии. Дрожжевые грибы характеризуются высокой скоростью накопления биомассы [4], способностью развиваться на минимальных средах с применением побочных продуктов сельскохозяйственной и пищевой промышленности, что значительно снижает затраты на производство биологически активных веществ [5]. Дрожжи усваивают широкий спектр источников углеродного питания, устойчивы к контаминации посторонней микрофлорой, не загрязняют воздух спорами, клетки дрожжей легко отделяются от культуральной жидкости. В промышленных условиях культивирование дрожжей не вызывает особых затруднений, что определяет возможность автоматизировать процессы производства [4].

Для сравнения – использование растений, как источников БАВ, связано с такими трудностями, как сезонные и географические факторы [6]. Кроме того, крупномасштабное производство дрожжей в ферментерах значительно удобней, чем микроводорослей и мицелиальных грибов, за счет их одноклеточной структуры и высокой скорости роста [7]. В отличие от бактерий дрожжи, как микробиологические объекты, более безопасны и достаточно удобны с точки зрения выполнения генетических манипуляций в системе хозяин-вектор [8].

Дрожжевые грибы нашли широкое применение в различных областях промышленности:

- в пищевой промышленности дрожжи применяются для получения пищевых добавок, пищевых красителей, пленочного покрытия, в сыроварении;
- в химической промышленности используются в производстве моющих средств, этанола;

- в нефтяной промышленности дрожжи используются в качестве ассимилянтов нефти и нефтепродуктов;
- в фармацевтической промышленности для изготовления лекарственных препаратов и в косметологии;
- в сельском хозяйстве дрожжи применяются для получения кормовых добавок [4, 8].

В связи с этим, активное использование дрожжей в инновационных биотехнологиях обуславливает целесообразность поиска новых промышленно-ценных штаммов-продуцентов дрожжевых грибов, их молекулярно-генетическую идентификацию, а также длительное гарантированное сохранение жизнеспособности и биотехнологически ценных свойств дрожжевых грибов.

В Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (БКМ) – центральном депозитарии референтных, типовых и промышленно-ценных штаммов микроорганизмов в Республике Беларусь насчитывается более 2400 культур микроорганизмов различных таксономических групп. Коллекционный фонд дрожжевых грибов насчитывает 277 культур дрожжей – продуцентов кормового белка, липидов, полисахаридов, каротиноидов и других биологически активных веществ. Особое внимание уделяется выделению из природных источников новых штаммов дрожжевых грибов – потенциальных объектов биотехнологий для использования в различных областях промышленности и сельском хозяйстве. В 2019 году коллекционный фонд БКМ пополнен 35 штаммами дрожжевых грибов, относящихся к 15 родам: *Rhodospiridium*, *Cystofilobasidium*,

Таблица – Таксономическая принадлежность выделенных из природных источников штаммов дрожжевых грибов

Изоляты дрожжей	Сходство с референс-последовательностями из базы данных GenBank	Видовое название	Коллекционный номер штамма (№ БИМ)
ПЖ4	99%	<i>Rhodospiridium azoricum</i>	Y – 301 Г
Фл2	99%	<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i>	Y – 302 Г
ФлБ2	99%	<i>Cystofilobasidium</i> sp.	Y – 303 Г
АС1	99%	<i>Sporobolomyces roseus</i>	Y – 304 Г
КК1	99%	<i>Sporobolomyces roseus</i>	Y – 305 Г
СЛ2	97%	<i>Dothiora cannabinae</i>	Y – 308 Г
БХ3	99%	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y – 309 Г
ПФ2	99%	<i>Sporobolomyces roseus</i>	Y – 310 Г
ВШ4	99%	<i>Holtermannia corniformis</i>	Y – 311 Г
БХ2	99%	<i>Cryptococcus ater</i>	Y – 312 Г
СН1	99%	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Y – 313 Г
МЛ2	99%	<i>Rhodotorula graminis</i>	Y – 314 Г
ОД1	99,52%	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y – 315 Г
ПЖ2	99%	<i>Rhodospiridiobolus colostri</i>	Y – 316 Г
ПЖ3	99,75%	<i>Rhodospiridiobolus colostri</i>	Y – 317 Г
ПФ3	99%	<i>Rhodospiridiobolus colostri</i>	Y – 318 Г
ЭХ3	99%	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Y – 319 Г
СЖ2	99,87%	<i>Cryptococcus</i> sp.	Y – 320 Г
ХС2	99,73%	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y – 321 Г
ЧЕ1	99,77%	<i>Sporobolomyces roseus</i>	Y – 322 Г
КЛ2	99,99%	<i>Sporobolomyces roseus</i>	Y – 323 Г
6/2	99,84%	<i>Sporobolomyces</i> sp.	Y – 324 Г
П2	99,88%	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Y – 325 Г
ГЕ1	99,83%	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y – 326 Г
СЖ1	99,63%	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Y – 327 Г
КК2	99,74%	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	Y – 328 Г
ПАП3	99,77%	<i>Candida</i> sp.	Y – 329 Г
ХС1	99,99%	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	Y – 330 Г
БВ	99,99%	<i>Cystobasidium laryngis</i>	Y – 331 Г
ХС3	99,64%	<i>Bullera unica</i>	Y – 332 Г
Т1	99,86%	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y – 333 Г
Ч1	99,85%	<i>Dothiora cannabinae</i>	Y – 334 Г
Г1	99,7%	<i>Bensingtonia yamatoana</i>	Y – 335 Г
М2	99,69%	<i>Papiliotrema fonsecae</i>	Y – 336 Г
ПЕ1	99,64%	<i>Filobasidium</i> sp.	Y – 337 Г

Sporobolomyces, *Dothiora*, *Rhodotorula*, *Holtermannia*, *Cryptococcus*, *Rhodospordiobolus*, *Metschnikowia*, *Candida*, *Cystobasidium*, *Bullera*, *Bensingtonia*, *Papiliotrema* и *Filobasidium*, выделенных из природных источников: с поверхности листьев, ягод и цветов декоративных, лекарственных, плодово-ягодных культур. В ходе исследований определены их морфологические и физиолого-биохимические признаки (способность сбраживать сахара и ассимилировать источники углерода). Выполнена молекулярно-генетическая идентификация дрожжей с использованием метода сравнения нуклеотидных последовательностей, кодирующих ген 18S рРНК. Перечень штаммов дрожжевых грибов и их таксономическая принадлежность представлены в таблице.

Дрожжи родов *Rhodospordium*, *Sporobolomyces*, *Rhodotorula* и *Rhodospordiobolus* являются продуцентами различных каротиноидных пигментов: α -, β -, γ -каротина, торулена, торулародина, зеаксантина, ликопина. Каротиноидсинтезирующие дрожжи перспективны для фармацевтической промышленности как источники получения витамина А, в сельском хозяйстве каротиноиды дрожжей используются в качестве кормовой добавки, а в пищевой промышленности – как пищевая добавка при производстве хлеба, масла, маргарина и других продуктов, а также в качестве красителей для вареных колбас, безалкогольных напитков, выпечки [7].

Меланинпродуцирующие дрожжевые грибы рода *Dothiora* нашли широкое применение в фармацевтической, пищевой и косметической промышленности для производства биологически активных меланинсодержащих лечебно-профилактических и пищевых добавок в диетотерапии и функциональном питании; биодобавок для косметических средств в качестве высокоактивных компонентов защитного или лечебно-восстановительного назначения [9].

Внеклеточные полисахариды дрожжей родов *Holtermannia*, *Cryptococcus*, *Cystofilobasidium*, *Cystobasidium*, *Filobasidium* и *Candida* используются в качестве стабилизаторов мороженого, фруктовых соков, загустителей сиропов, джемов, подливок, желе. Кроме того, добавление полисахаридов дрожжей рода *Cryptococcus* в муку повышает газодерживающую способность теста, а хлеб, выпеченный из такого теста, медленнее черствеет и отличается хорошей пористостью. Дрожжи рода *Bullera* используются в качестве витаминной закваски в хлебопечении для улучшения качества муки. Получение липолитических ферментов из дрожжевых грибов родов *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, и *Candida* играет особую роль в биотехнологии, поскольку липазы представляют интерес для химической и пищевой промышленности, в частности, используются в производстве моющих средств и применяются в сыроварении и других производственных процессах [4].

Дрожжевые грибы рода *Metschnikowia* при совместном культивировании с дрожжами *Saccharomyces uvarum* используются при производстве широко известных брендовых марок вин «Chardonnay» и «Syrah», а также в пивоварении [10].

Промышленно-ценные штаммы микроорганизмов из фонда БКМ используются для получения лечебно-профилактических препаратов, повышающих иммунитет у животных; производства биопрепаратов

против возбудителей болезней растений; бактериальных препаратов для деструкции токсичных органических веществ и биоремедиации природных и производственных сред; приготовления заквасок для силосования растительных субстратов; ферментных препаратов. БКМ имеет статус объекта национального достояния, является единственной государственной коллекцией, зарегистрированной во Всемирной федерации коллекций культур, представленной в настоящее время 781 коллекциями из 76 стран мира. Коллекционный фонд сформирован за счет культур, выделенных из природных источников сотрудниками лаборатории «Коллекция непатогенных микроорганизмов» методом селекции, а также штаммов микроорганизмов из других коллекций. БКМ включает следующие коллекции: коллекция бактерий, коллекция бактериофагов, коллекция мицелиальных грибов, коллекция дрожжевых грибов [11].

Таким образом, фонд Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов пополнен 35 новыми биотехнологически перспективными штаммами дрожжевых грибов. Представители видов дрожжей *Rhodospordium azoricum*, *Rhodospordium kratochvilovae*, *Cystofilobasidium* sp., *Dothiora cannabinae*, *Holtermannia corniformis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodospordiobolus colostri*, *Metschnikowia reukaufii*, *Cystobasidium laryngis*, *Bullera unica*, *Bensingtonia yamatoana*, *Papiliotrema fonsecae* и *Filobasidium* sp. впервые изолированы и описаны авторами, идентифицированы и введены в фонд БКМ, что подчеркивает научную значимость выполненных исследований. Вновь выделенные культуры дрожжевых грибов помещены на длительное хранение в лиофилизированном и криоконсервированном состоянии.

Список литературы

1. Jamali, S. Identification of yeast species from uncultivated soils by sequence analysis of the hypervariable D1/D2 domain of LSU-rDNA gene in Kermanshah province / S. Jamali, M. Gharaei, S. Abbasi // *Mycologia Iranica*. – 2016. – Vol. 3 (2). – P. 87-98.
2. Montes de Oca, R. Yeast: description and structure / Montes de Oca, R. [et al.] // *Universidad Autónoma del Estado de México*. – 2016. – P. 4-13.
3. Бабьева, И.П. Биология дрожжей / И.П. Бабьева, И.Ю. Чернов // *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*. – 2004. – С. 134-223.
4. Дрожжи в современной биотехнологии / Т.Е. Банницына [и др.] // *Вестник МАХ*. – 2016. – № 1 – С. 24-29
5. Получение биомассы каротинсинтезирующих дрожжей рода *Rhodotorula* при культивировании на сельскохозяйственных отходах / О.П. Червякова [и др.] // *Бутлеровские сообщения*. – 2017. – Т. 50, № 5. – С. 95-98.
6. Simova, E.D. Effect of aeration on the production of carotenoid pigments by *Rhodotorula rubra-Lactobacillus casei* Subsp. *casei* co-cultures in whey ultrafiltrate / E.D. Simova, G.I. Frengova, D.M. Beshkova. – *Bulgarian academy of sciences*. – 2003. – P. 225-229.
7. Ferrao, M. Studies on effect of media components on growth and β -carotene production by *Rhodotorula*

- graminis* RC04 / M. Ferrao, S. Garg. – Journal of cell and tissue research. – 2011. – Vol. 11(1) – P. 2551-2556.
8. Biotechnological production of carotenoids by yeast: an overview / L.C. Mata-Gomez [et al.] // Microbial cell factories. – 2014. – P. 1-11.
 9. Продуцент меланинодержащей биологически активной добавки «астромеланин» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://findpatent.ru/patent/211/2116037.html>. – Дата доступа: 25.03.2013.
 10. *Metschnikowia pulcherrima* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://ru.qwertyu.wiki/wiki/Metschnikowia_pulcherrima. – Дата доступа: 2016.
 11. Баева, С.В. Каталог коллекции микроорганизмов / С.В. Баева, И.С. Важинская, Н.В. Образцова, Г.И. Новик // Институт микробиологии НАН Беларуси. – 2006. – С. 3-4.

ГЕРБАРИЙ ГРИБОВ ИНСТИТУТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ им. В.Ф.КУПРЕВИЧА НАН БЕЛАРУСИ (MSK-F)

Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б.

Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск

Гербарий грибов (MSK-F) лаборатории микологии является частью ботанического гербария Института экспериментальной ботаники. Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 11 июня 2002 года № 758 Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича Национальной академии наук Беларуси признан крупнейшим и репрезентативным собранием документированных растений, и объявлен научным объектом, составляющим национальное достояние. Гербарий включает 9 основных коллекций: гербарии сосудистых растений, мохообразных, водорослей, лишайников, грибов, палеоботанические коллекции, карпологическая и палинологическая коллекции.

Микологическая коллекция MSK-F является наиболее молодой частью гербария, который состоит из четырех основных коллекций: агарикоидные макромицеты, афиллофороидные грибы, микромицеты и миксомицеты.

Микромицеты на различных субстратах стали предметом изучения в Беларуси еще с начала XIX века. Первая известная работа, в которую были включены 17 видов микроскопических грибов, принадлежит J.Jundzill (1830). На территории современной Беларуси работали такие известные польские ботаники, как К. Filipowicz, A.Kastory, F. Błoński и др. Более поздние сборы проводились российскими микологами А. Ячевским (1907), Г. Дорогиным (1912), С. Шембелем (1913).

Начало систематического изучения микромицетов пришлось на предвоенные годы и связано с ржавчинными грибами, особенно такими хозяйственно значимыми, как ржавчина яблони, груши, боярышника, основные работы, посвященные этой группе грибов, принадлежат Л.А. Лебедевой «Списки грибов и миксомицетов» (1925 г.) и В.Ф. Купревича «Грибы Смалявицкага района (Меншчына)» (1931 г.) [1].

Развитие микологических исследований и создание гербария грибов в Республике Беларусь было продолжено в середине 50-годов прошлого века академиком Василием Феофиловичем Купревичем, в созданном им отделе физиологии и систематики низших растений, им были впервые сформированы принципиально новые для республики научные направления: систематика, таксономия, география, биология и экология грибов. Созданная

им немногочисленная группа научных сотрудников активно набирала материал, систематизировала и изучала видовое разнообразие грибов (шляпочные, афиллофороидные грибы, микромицеты) и лишайников. К 1971 году гербарий грибов насчитывал около 900 видов. Он содержал виды, собранные в Беларуси и тропические грибы Закарпатской области – Agaricales (более 650 видов), Arhyllorphorales (250 видов).

В 1971 году, после смерти В.Ф. Купревича, отдел был передан в Институт экспериментальной ботаники и на его основе сформирована лаборатория микологии. Академик Н.А. Дорожкин сохранил основные научные направления, созданные академиком В.Ф. Купревичем, гербарий грибов был расширен за счет изучения и сборов фитопатогенных микромицетов различных с/х растений, была также создана коллекция чистых культур фитопатогенных микромицетов.

В настоящее время коллекция микромицетов (порядка 8000 образцов) гербария грибов насчитывает более 1300 видов микромицетов разных систематических групп и состоит из десяти систематических групп:

1. Сборы ржавчинных грибов 1940 гг. Небольшой раздел, состоящий из образцов, собранных В.Ф. Купревичем на севере России в период эвакуации во время Второй мировой войны. Раздел представляет собой скорее историческую ценность, т.к. в нем представлено весьма ограниченное количество видов, преимущественно семейства Pucciniaceae.

2. Сборы ржавчинных грибов 1950 гг., сделанные М.А. Щербактовой. Включают несколько десятков видов, относящихся к родам *Coleosporium* Leveille, *Melampsora* Castagne, *Puccinia* Persoon и *Uromyces* (Link) Unger и развивающихся на дикорастущих травянистых растениях.

3. Микромицеты на бобовых культурах (1968 – 2000 гг.). Большинство образцов было собрано и идентифицировано В.И. Нитиевской, Н.И. Чекалинской и В.М. Корней. Коллекция содержит примерно 170 видов грибов, относящихся к родам *Peronospora* Corda, *Mucor* P. Micheli ex Fr., *Erysiphe* A. P. de Candolle ex Fr., *Golovinomyces* (U. Braun) V.P. Gelyuta, *Microsphaera* Leveille, *Leptosphaerulina* D. McAlpine, *Pleospora* Rabenhorst ex Cesati et De Notaris, *Cymadothea* F.A. Wolf, *Chaetomium* (Kunze) Fr., *Polythrincium* Kunze,

Sphaerulina P.A. Saccardo, *Sclerotinia* Fuckel, *Pseudopeziza* Fuckel, *Puccinia* Persoon, *Uromyces* (Link) Unger, *Typhula* (Pers.) Fr., *Alternaria* C.G.D. Nees, *Botrytis* P. Micheli ex Pers., *Cercospora* Fresenius, *Cladosporium* Link, *Coniothyrium* Corda, *Cylindrocarpon* H.W. Wollenweber, *Ramularia* P.A. Saccardo, *Fusarium* Link, *Stemphylium* Wallroth, *Ascochyta* Libert, *Kabatiella* Bubak, *Pestalotia* De Notaris, *Phoma* P.A. Saccardo, *Septoria* P.A. Saccardo, *Sporonema* Desmazieres, *Stagonospora* P.A. Saccardo [1]. Основными питающими растениями, представленными в гербарии, являются клевер, люцерна, эспарцет, донник и лядвенец. Наиболее ранние образцы относятся ко второй половине 1950 гг. и работа по сбору данной части гербария продолжалась вплоть до начала 2000 гг. Многие гербарным образцам соответствуют штаммы в коллекции чистых культур, в том числе изоляты из ризосферы бобовых трав.

4. Микромицеты хвойных пород. Коллекция начала формироваться в 1970 гг. В.И. Федоровым, затем В.И. Карзенком. В последние годы пополнялась разными коллекторами, среди которых Д.Б. Беломесяцева, Н.И. Федоров, Н.Ф. Кириленкова, Л.С. Чумаков, В.Б. Звягинцев, Е.О. Юрченко, Т.Г. Шабашова, С.И. Кориняк, В.И. Нитиевская, А.Г. Зубей. Включает образцы микромицетов на остатках хвойных растений (на хвое, коре, древесине, корнях, на опаде различной степени деструкции). Из имеющихся в гербарии сборов аскомицетов наибольший интерес вызывают виды родов *Cenangium* E.M. Fries, *Chloroscypha* Seaver, *Herpotrichia* Fuckel, *Lophium* E. M. Fries, *Lophodermium* Chevallier, *Mycosphaerella* Johanson, *Mytilinidion* Duby, *Phacidium* E.M. Fries, *Rhizosphaera* Mangin et Hariot, *Synesielia* Arnaud, *Teichospora* Fuckel, *Tyranis* E.M. Fries, из ржавчинных грибов наиболее полно представлены виды родов *Coleosporium* Leveille, *Gymnosporangium* R.A. Hedwig ex A.P.de Candolle и *Melampsora* Castagne. Самая большая часть коллекции (72%) таксономически представлена грибами в анаморфной стадии. Следует отметить виды, относящиеся к родам *Bactrodesmium* M.C. Cooke, *Brachysporium* P.A. Saccardo, *Camarosporium* Schulzer von Mueggenburg, *Chalara* (Corda) P.A. Saccardo, *Chloridium* Link, *Constantinella* Matruchot, *Discosia* Libert ex E.M. Fries, *Endophragma* Duvernoy et Maire, *Epicoccum* Link, *Fusidium* Link ex E.M. Fries, *Harpographium* P.A. Saccardo, *Monodictys* S.J. Hughes, *Pestalotiopsis* R.L. Steyaert, *Phoma* P.A. Saccardo, *Phragmotrichum* G.Kunze ex E.M. Fries, *Ramichloridium* Stahel ex G.S. de Hoog, *Scleropycnis* H. Sydow et P. Sydow, *Seimatosporium* Corda, *Septonema* Corda, *Sirococcus* Preuss, *Sphaeridium* Fresenius, *Stachybotrys* Corda, *Trimmatostroma* Corda и др [1, 2].

5. Микромицеты на растениях семейства розовых. Коллектор Е.О. Юрченко, основные сборы были сделаны в 1990-х годах, насчитывает несколько сот образцов. Идентифицированные грибы относятся преимущественно к родам *Pleospora* Rabenhorst ex Cesati et De Notaris, *Actinocladium* C.G. Ehrenberg ex E.M. Fries, *Fusicladium* Bonorden, *Fusicoccum* Corda, *Triposperrum* Spiegazzini, *Spilocaea* E.M. Fries. [3].

6. Гербарий микромицетов, развивающихся на лекарственных растениях. Формирование этой части гербария началось с 1998 г. и продолжается до настоящего времени. Изучая болезни лекарственных растений, С.И. Кориняк идентифицировал около 300 видов микроскопических грибов. Наиболее богато

представлены рода *Ovularia* P.A. Saccardo, *Ramularia* P.A. Saccardo, *Alternaria* C.G.D. Nees, *Ascochyta* Libert, *Cercospora* Fresenius, *Colletotrichum* Corda, *Gloeosporium* Desmazieres, *Phyllosticta* Persoon, *Septoria* P.A. Saccardo. Значительная часть гербарных образцов собрана в Лекарственном саду Виолентия на женьшене, эхинаее и других лекарственных растениях. В последние годы коллекция пополнилась сборами микромицетов на дикорастущих лекарственных растениях [1, 3].

7. Небольшая, но интересная коллекция микофильных грибов, собранная Г. Арнольдом и Е.О. Юрченко, включает около 70 образцов микромицетов, развивающихся на шляпочных грибах. В ней представлены рода *Apiocrea* H. Sydow et P. Sydow, *Hypocrea* E. M. Fries, *Hypomyces* (E. M. Fries) L. R. Tulasne, *Syzygites* Ehrenberg ex E. M. Fries, *Calcarisporium* Preuss, *Mycogone* Persoon, *Thysanophora* W. B. Kendrick.

8. Микромицеты-биодеструкторы, собранные на различных субстратах.

9. Коллекция микромицетов, собранных Т.Г. Шабашовой и Д.Б. Беломесяцовой на разных древесных породах и естественных субстратах (лиственном и веточном опаде, подстилке, почве и т.д.) наиболее широко представлена разными видами микромицетов разных систематических групп [1, 4, 5].

10. Коллекция дублетов. Гербарные образцы, собранные в России, в Швеции, в ЮАР, в Китае, Таиланде В.А. Мельником, Д.А. Шабуниним, Е.О. Юрченко. Помимо этого, в гербарии хранится более 50 видов микромицетов, в разные годы собранных на территории Беларуси и переданных в дар лаборатории микологии В.А. Мельником (дублеты БИН РАН). Тридцать один вид фитотрофных грибов был передан в дар А. Трейгиене (Литва). Также в гербарии имеется несколько выпусков экзикатов – Московского общества испытателей природы и Ботанического института РАН, посвященных микромицетам.

Список литературы

1. Беломесяцева Д.Б., Шабашова Т.Г. Флора Беларуси. Грибы. В 7 т. Т. 2. Анаморфные грибы. Кн. 1. Темноокрашенные гифомицеты – Минск: Беларуская навука, 2015 – 162 с.: ил. ISBN 978-985-08-1835-5
2. Карзенко В.И. Патагенныя мікраміцэты сеянцаў і саджанцаў хваёвых парод у гадавальных Беларусі // Вести АН БССР. 1990. № 3. С. 10–13.
3. Гапиенко О.С., Беломесяцева Д.Б., Кобзарь Н.Н., Кордияко Н.Г., Кориняк С.И., Шабашова Т.Г. и соавт. Макромицеты, микромицеты и лихенизированные грибы Беларуси. Гербарий Института экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича (MSK-F, MSK-L) / Научн. ред. В.И.Парфенов, О.С.Гапиенко. – Минск: ИВЦ Минфина, 2006 – 501 с.
4. Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б. Пополнение коллекционного фонда грибов гербария MSK-F новыми образцами и видами отдела Ascomycota (сообщение 1) // Ботаника (исследования). Вып. 42, Мн.: Ин-т радиологии, 2013 г. – С. 63-75.
5. Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б. Новые образцы и виды анаморфных грибов отдела Ascomycota в коллекционном фонде гербария MSK-F (сообщение 2) // Ботаника (исследования). Вып. 43, Мн.: Ин-т радиологии, 2014 г. – С. 41-47.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ И УСТАНОВЛЕНИЯ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ И КОЛЛЕКЦИОННЫХ КУЛЬТУР ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM*

Стахеев А.А.¹, Самохвалова Л.В.¹, Минаева Л.П.², Киселёва М.Г.², Завриев С.К.¹.

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²«ФИЦ питания и биотехнологии», Москва

Плесневые грибы играют важную роль в биосферных процессах, в том числе оказывая значительное влияние на жизнь человека и животных. Одним из важнейших таксонов в этой группе является род *Fusarium*. Представители этого рода занимают различные экологические ниши, являясь, среди прочего, одними из наиболее вредоносных патогенов сельскохозяйственных культур.

За последнее время был опубликован ряд работ, посвящённых выявлению групп штаммов, впоследствии выделенных в отдельные виды, с использованием комплексного морфологического, молекулярно-генетического подходов и анализа спектра метаболитов, например *F. ussurianum* и *F. sibiricum* в Сибири и на дальнем Востоке России (Yli-Mattila et al., 2009, 2011), *F. ficicrescens* в Иране (Al-Hatmi et al., 2016), *Fusarium sudanense* в восточной Африке, *Fusarium terricola* в Австралии (Moussa et al., 2017), *Fusarium stercicola* и *Fusarium wizenhausenense* в Германии (Sisic et al., 2018), *F. zanthoxyli* и *F. continuum* в Китае (Zhou et al., 2016) и некоторые другие. При этом российская коллекция грибов рода *Fusarium* по-прежнему изучена достаточно слабо. На наш взгляд, это обусловлено использованием исследователями в разное время разных определителей и разных концепций вида. Мы полагаем также, что среди коллекционных штаммов присутствуют представители не охарактеризованных на сегодняшний день видов и подвидов.

Ранее нами во всероссийских коллекциях был обнаружен ряд культур грибов рода *Fusarium*, таксономическая принадлежность которых не вполне очевидна, и требует дополнительного исследования. Для решения этих целей мы использовали комплексный мультидисциплинарный подход, включающий анализ маркерных последовательностей ДНК, полногеномный анализ, микроскопию, и изучение профилей токсических метаболитов.

Методика исследований. Для проведения микроскопического анализа штаммы грибов выращивали в течение 10–14 суток на картофельно-сахарозном агаре (КСА), гвоздично-листовом агаре (ГЛА) и синтетической среде Ниренберга (SNA). Морфологические характеристики штаммов определяли с помощью лабораторного микроскопа МИКМЕД 6 (Ломо, Россия).

Мультилокусный филогенетический анализ с использованием частичных последовательностей 6 белок-кодирующих генов: ген фактора элонгации трансляции (*TEF1a*), ген большой субъединицы РНК-полимеразы II (*RPB2*), ген фосфатпермеазы (*PHO*), ген аммонийцитратлиазы (*ac1*), ген компонента 7 сохранения минихромосом (*MCM7*), ген белка теплового шока 90 (*HSP90*). При этом 2 последних гена впервые были использованы для филогенетических исследований рода *Fusarium*.

Построение филогенетических деревьев проводили с использованием метода максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML) и модели нуклеотидных замен GTR+G (General Time Reversible, с гамма-распределением) в программе MEGA5.1. Достоверность топологий филогенетических деревьев подтверждали с помощью бутстреп-анализа с 1000 повторностей.

Выделение и очистку образцов ДНК для проведения полногеномного секвенирования проводили с использованием коммерческого набора Quick-DNA Plant/Seed Miniprep Kit (Zymo Research, США). Секвенирование проводилось на платформе Illumina HiSeq X Ten с использованием парных прочтений длиной 2 X 150 п.н. Геномные библиотеки были подготовлены с помощью TruSeq DNA PCR-free library preparation kit (Illumina, США). Для поиска генных кластеров, предположительно связанных с синтезом вторичных токсических метаболитов, были использованы пакеты программ antiSMASH и SMURF.

Исследования профиля вторичных метаболитов проводили при культивировании на пяти видах питательных сред: КСА, картофельно-сахарозный полужидкий агар (КСПА), картофельно-сахарозный бульон (КСБ), среда Чапека с дрожжевым экстрактом и 20% сахарозы (CY20S) и рис (стерильное зерно/вода -1/1,5). Предварительно выращенные в течение 14 суток на КСА в пробирках культуры штаммов F-133 и F-846 смывали стерильным физраствором и полученную суспензию спор вносили в пробирки с 2 г питательных сред по 0,1 мл. После культивировали 14 и 24 суток при 24 °С проводили экстракцию смесью: ацетонитрил-вода-уксусная кислота 80 : 20 : 0,5. Полученные экстракты передавали на анализ ВЭЖХ-МС/МС.

Скрининг 18 метаболитов исследуемых штаммов грибов проводили методом ВЭЖХ-МС/МС с ионизацией электроспреем в соответствии с методикой разработанной Киселевой М.Г. с соавт. (Киселева с соавт., 2020), с использованием широкого спектра аналитов: ДОН, Ф3 (В1 и В2), токсин Т-2, ЗЕН и их структурные производные (диацетокси-скирпенол (ДАС), токсин НТ-2, Т-2 триол, неосоланиол (НеоС) – производные токсина Т-2; 3 – и 15-ацетил дезоксиниваленол (3 – и 15-АцДОН), ниваленол (НИВ), фузаренон Х (ФузХ) – производные ДОН; альфа – и бета-зеараленол – производные ЗЕН), ЭНН А и В, БО.

Результаты и обсуждение. Объектами исследования стали 7 культур грибов рода *Fusarium* и Всероссийской коллекции микроорганизмов (Пушино, Московская область). Наиболее интересными из них для нас оказались F-846 (первоначальная идентификация – *F.poaе*), F-133 (*F. heterosporum*), F-2751 (*F. lateritium*), F-1178 (*F. avenaceum*). В ходе микроскопического анализа было продемонстрировано, что штамм F-846 об-

разовывал овальные, булавовидные и веретеновидные микроконидии, а также тостостенные макроконидии с 4-5 перегородками. Конидиогенные клетки – моно – и полифиалиды. Этот результат демонстрирует высказанное ранее предположение об ошибочности первоначальной идентификации F-846 как *F. roae* (для вида *F. roae* характерны шаровидные или остроконечные микроконидии, а также крайне редко образующиеся макроконидии, в основном – с 3 перегородками). Полученные данные позволили сделать предположение, что F-846 может представлять собой *F. semitectum*, либо *F. kuushuense*. При этом, его географическое происхождение не вполне соответствует климато-географическим ареалам распространения упомянутых видов. Для штаммов F-133, F-1178, и было показано наличие удлиненных изогнутых макроконидий, содержащих 3-4 перегородки, что характерно для *F. avenaceum* species complex (*F. avenaceum*, *F. tricinctum*, *F. acuminatum*, *F. torulosum*, *F. anguioides*).

По результатам полногеномного секвенирования было показано, что геномы штаммов F-846 и F-133 не содержат известных генных кластеров, ответственных за синтез основных групп микотоксинов. При этом они содержат ген, предположительно гомологичный гену энниатин-синтазы (*Esyn1*) – фермента, ответственного за биосинтез микотоксинов энниатиновой группы и боверицина. Сравнение ключевых и наиболее информативных ДНК-маркеров с базой данных GenBank NCBI показало, что F-846, судя по всему, действительно представляет собой не охарактеризованный ранее вид. Как видно из представленных данных, наиболее близкими к анализируемой оказались последовательности *F. fujikuroi* (91% идентичности). Сходная картина наблюдалась для других маркерных фрагментов, в том числе межгенных спейсеров ITS1 и ITS2. Единственным исключением стал ген большой субъединицы РНК-полимеразы II. Анализ последовательности этого гена продемонстрировал 98% идентичность с соответствующей последовательностью вида *F. babinda*. Что касается штамма F-133, то по данным анализа полных структур основных маркерных генов он либо соответствовал *F. avenaceum*, либо был близок к нему. Наиболее отличной была последовательность гена фосфатпермеазы (*PHO*), сходство составило 92%. При этом необходимо отметить, что в ходе наших более ранних исследований было продемонстрировано, что ген *PHO* характеризуется сверхвысоким полиморфизмом для *F. avenaceum* species complex. Анализ несколько затруднен крайне сложной филогенетической структурой комплекса видов *F. avenaceum*, и для окончательного определения нужны дополнительные данные. На основании имеющегося материала мы можем сделать осторожное предположение о том, что F-133 представляет собой подвид *F. avenaceum*, либо один из «филогенетических видов» *F. avenaceum* species complex.

Анализ вторичных метаболитов по 18 видам МТ и их производных показал способность обоих штаммов F-133 и F-846 к синтезу лишь EnnA и B, остальные метаболиты не обнаруживались. Для штамма F-133 накопление EnnA (мкг/г среды) было выявлено наибольшим на среде CY20S – 6,0 на 14 сутки, на средах КСА, КСПА и КСБ на 24 сутки варьировало в диапазоне 1,02

– 1,48; EnnB обнаруживался в значительно меньших количествах: на среде CY20S – 0,31, на КСА, КСПА и КСБ – 0,43÷0,80. У штамма F-846 способность к продуцированию EnnB в десятки превышало таковую для EnnA, максимальные уровни накопления EnnB были выявлены через 14 суток на средах КСА, КСПА и КСБ (мкг/г среды): 7,66÷11,90, а на CY20S – 2,0; для EnnA продукция на картофельно-сахарозных средах не превышала 0,3, а на CY20S – 0,04. Для обоих штаммов при культивировании на рисе продукция EnnA и B была в десятки раз меньше.

Таким образом, совокупность полученных данных говорит об ошибочности первоначальной идентификации исследуемых штаммов. Наиболее интересным из них был штамм F-846, который, по всей видимости, представляет собой не описанный ранее вид. Штаммы F-133, F-2751 и F-1178, относятся к комплексу видов *F. avenaceum*, однако для того, чтобы определить, являются ли они подвидами уже известных видов, или представляют собой отдельные виды, требуются дальнейшие исследования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-04-00642.

Список литературы

1. Yli-Mattila T., Gagkaeva T.Yu., Ward T.J., Aoki T., Kistler H.G., O'Donnell K. 2009. A novel Asian clade within the *Fusarium graminearum* species complex includes a newly discovered cereal head blight pathogen from the Russian Far East. *Mycologia*. 101, 841-852.
2. Yli-Mattila T., Ward T.J., O'Donnell K., Proctor R.H., Burkin A.A., Kononenko G.P., Gavrilova O.P., Aoki T., McCormick S.P., Gagkaeva T.Y. 2011. *Fusarium sibiricum* sp. nov, a novel type A trichothecene-producing *Fusarium* from northern Asia closely related to *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae*. *International Journal of Food Microbiology* 147. 58-68.
3. Al-Hatmi A., Mirabolfathy M., Hagen F., Normand A., et al. 2016. DNA barcoding, MALDI-TOF, and AFLP data support *Fusarium ficicrescens* as a distinct species within the *Fusarium fujikuroi* species complex. *Fungal Biology*, 120, 265-278.
4. Moussa T.A.A., Al-Zahrani H.S., Kadasa N.M.S., Ahmed S.A., de Hoog G.S., Al-Hatmi A. 2017. Two new species of the *Fusarium fujikuroi* species complex isolated from the natural environment. *Antonie van Leeuwenhoek*.
5. Sisic A., Al-Hatmi A., Bacanovic-Sisic J., Ahmed S.A., Dennenmoser D., de Hoog G.S., Finch M.R. 2018. Two new species of the *Fusarium solani* species complex isolated from compost and hibiscus. *Antonio Van Leeuwenhoek*. P. 1-21.
6. Zhou X., O'Donnelly K., Aoki T., Smith J.A., Kasson M.T., Cao Z.M. 2016. Two novel *Fusarium* species that cause canker disease of prickly ash in Northern China form a novel clade with *Fusarium torreyae*. *Mycologia*, 4, 668-681.
7. Киселева М.Г., Седова И.Б., Чалый З.А., Минаева Л.П., Шевелева С.А. Изучение загрязнённости чая и чайных травяных напитков микотоксинами (Сообщение 2). Анализ риска здоровью. – 2020. – № 2 (в печати).

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ХРАНЕНИЮ РАБОЧЕЙ КОЛЛЕКЦИИ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР МИКРОМИЦЕТОВ В ПРОБИРКАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИАКРИЛАТА НАТРИЯ

М.М. Яремеева, А.Ф. Белосохов, С.Н. Еланский

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Разработка подходов к поддержанию коллекций чистых культур штаммов микромицетов ведется уже давно, и к настоящему времени существует несколько различных методов как кратковременного, так и долгосрочного хранения (Smith, 2002; Похиленко и др., 2009). Сейчас все большее распространение получают методы криоконсервации (Smith, Onions, 1983; Homolka, 2013). Тем не менее, при постоянной работе с культурами требуется поддержание изолятов на питательных средах в живом состоянии, так как при использовании криоконсервации для хранения культур при выведении штаммов из глубокой заморозки необходимо дополнительное время перед непосредственным включением их в работу исследователя. Более того, многие лаборатории не оборудованы низкотемпературными холодильниками и вынуждены хранить коллекцию микромицетов традиционным методом в пробирках, заткнутых ватно-марлевыми пробками. Традиционный метод хранения на скошенном агаре требует производить пересев культур раз в полгода при хранении при комнатной температуре и раз в год при хранении в холодильнике из-за высыхания среды. Это время – и трудозатратный процесс, при котором, в связи с частыми пересевами, увеличивается риск контаминации культур и вырождения исходных изолятов. Таким образом, совершенствование методов хранения рабочей коллекции исследователя не теряет актуальности. В работе предложен новый подход к традиционному методу: использование недорогого и подходящего для роста мицелиальных грибов материала – гидрогеля.

Апробацию проводили на коллекции микромицетов, выделенных с клубней картофеля в период с 2017 по 2019 год. В работе были использованы культуры нескольких родов: *Fusarium*, *Clonostachys*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Penicillium*. В качестве субстрата для роста колоний использовали прозрачный гидрогель (полиакрилат натрия, производитель Listok) в шариках 7 мм. Для создания питательной среды гидрогель насыщали стандартной жидкой картофельно-глюкозной средой или разведенным мальтозным экстрактом. Пробирки, заполненные гидрогелем с питательной средой, стерилизовали автоклавированием в течение 30 мин при 1 атм. Затем в них помещали агаровый блок с мицелием или спорами, эксперимент ставили в двух по-

вторностях. После 7-14 дней роста изолята ватно-марлевою пробку одной из пробирок вынимали и верх пробирки заматывали поливинилхлоридной пленкой или парафилом (Parafilm M). Хранили культуры при комнатной температуре (+22-25°C) и в холодильнике (+4°C) в течение одного года.

Независимо от температуры, штаммы, выросшие на гидрогеле, даже по прошествии года сохранили жизнеспособность. Предложенный метод избавляет от необходимости ежегодных пересевов: при подсыхании достаточно добавить в пробирку жидкую питательную среду, или стерильный насыщенный ею гидрогель, если большая часть субстрата с мицелием использована в работе. При этом снижаются затраты, так как гидрогель – недорогой и широко распространенный материал. Стоит отметить, что поливинилхлоридная пленка снижает высыхание, но не препятствует газообмену. Кроме того, в отличие от парафила, она не теряет качество со временем, в течение длительного периода оставаясь эластичной.

Таким образом, метод культивирования микромицетов на полиакрилатном геле в сочетании с использованием ПВХ пленки с одной стороны является доступным, позволяет контролировать чистоту штаммов и при этом уменьшить частоту пересевов, а с другой стороны оставляет возможность исследователю постоянно работать с культурами.

Список литературы

1. Smith D. 37 Culturing, Preservation and Maintenance of Fungi // Plant pathologist's pocketbook. – 2002. – С. 384.
2. Похиленко В. Д., Баранов А. М., Дегушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – №. 4.
3. Smith D., Onions A. H. S. A comparison of some preservation techniques for fungi // Transactions of the British Mycological Society. – 1983. – Т. 81. – №. 3. – С. 535-540.
4. Homolka L. Methods of cryopreservation in fungi // Laboratory protocols in fungal biology. – Springer, New York, NY, 2013. – С. 9-16.

ПОПОЛНЕНИЕ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ФГБНУ ВНИИФ ШТАММАМИ МИКРОМИЦЕТОВ

Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Александрова А.В., Елизарова С.А.
Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы

В ФГБНУ ВНИИФ уже более полувека существует и функционирует Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов. Коллекция служит как для поддержания штаммов фитопатогенных микроорганизмов в жизнеспособном состоянии и сохранения их патогенных свойств, так и для обеспечения инфекционным материалом исследований фитопатологического, иммунологического, селекционного, генетического и токсикологического плана [1, 2].

В настоящее время в коллекции в жизнеспособном состоянии поддерживается более 2000 штаммов грибов – возбудителей болезней (пятнистости листьев, корневые гнили, черный зародыш зерна и т.п.). Эти болезни, вызываемые грибами из родов *Bipolaris*, *Fusarium* и *Alternaria*, широко распространены на всей территории возделывания зерновых культур в РФ [3, 4]. Видовой состав возбудителей корневой гнили, как правило, приурочен к определенным эколого-географическим районам и носит смешанный характер [5, 6].

В коллекции хранятся штаммы 12 видов грибов из рода *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. lateritium*, *F. poae*, *F. redolens*, *F. moniliforme*. Большинство штаммов этого рода выделены в чистую культуру из пораженных образцов пшеницы, ячменя, ржи, овса, вики, клевера и других культур, собранных на территории России.

В коллекции содержится также большое количество штаммов *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem., *Alternaria alternata* [Fr.] Keissler, *A. tenuissima* [Kunze ex Nees et T. Nees: Fries] Wiltshire, *A. infectoria* Simmons., способных загрязнять сельскохозяйственную продукцию метаболитами, токсичными для растений, человека и животных.

Патогенность возбудителей корневой гнили и черного зародыша, способствующая инфекционному процессу на зерновых культурах, во многом зависит от метаболической активности гриба [7]. Токсины грибов ведут к нарушению обмена веществ растения и замедлению физиологических процессов, понижению сопротивляемости болезни, усилению патологического процесса. Таким образом, продуцируемые фитопатогенами токсины являются основным фактором развития болезни растений. Патогенные микроорганизмы наносят вред не только сельскохозяйственной продукции, но и являются серьезной угрозой для здоровья людей и животных.

Кроме фитопатогенных микромицетов в коллекции хранится множество штаммов видов сапротрофных грибов, которые преимущественно были получены из ризосферы сельскохозяйственных растений. Большинство из них принадлежит к представителям родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Botrytis*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Verticillium*, *Trichotecium* и др.

Некоторые виды, относящиеся к родам *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* и *Rhizopus*, развиваются

исключительно на продуктах жизнедеятельности растения, не причиняя ему вреда, но вместе с тем ухудшают качество урожая, приводя к тусклости зерна и плесневению. В то же время большое количество грибов сапротрофной микрофлоры, выделенных с образцов озимой пшеницы, вызывают образование метаболитов, токсичных для растений и животных, тем самым причиняя существенный ущерб сельскохозяйственной продукции.

Необходимость сохранения коллекционного материала штаммов и изолятов вышеперечисленных видов грибов объясняется актуальностью проведения исследований по разработке методов биологической защиты, изучения динамики развития и расселения грибов, оценки их патогенной и токсичной активности на растениях-хозяевах. Коллекционный материал необходим также при оценке и отборе селекционных образцов, устойчивых к болезням и т.п. [8].

В связи с этим, основными задачами при создании и поддержании коллекции являются не только сохранение жизнеспособности и вирулентности штаммов и изолятов грибов, но и пополнение новыми образцами с различным спектром патогенных свойств.

С этой целью образцы зараженных растений, поступающие ежегодно из различных районов страны подвергаются микологическим исследованиям, и на основании анализа полученного материала проводится отбор наиболее вирулентных или патогенных образцов в коллекцию.

В 2019 году Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов была пополнена 43 штаммами микромицетов. Изоляты и штаммы грибов были выделены из тканей вегетирующих растений сельскохозяйственного назначения, древесно-кустарниковых, сорных растений, а также почвы и воды. Среди включенных в коллекцию организмов были факультативные паразиты и сапротрофные микромицеты (таблица).

Из видов рода *Fusarium* в коллекцию поступили штаммы 8 видов: *Fusarium culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc., *Fusarium lolii* (Wm.G. Sm.) Sacc., *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh., *Fusarium roseum* Link., *Fusarium trichothecioides* Wollenw., *Fusarium redolens* Wollenw. Следует указать, что штаммы грибов этого рода встречались во всех группах образцов растений и почве, что подтверждает их низкую специализацию.

Штаммы грибов рода *Alternaria* были получены из образцов пшеницы, картофеля, сирени и почвы. Из них первые три по видовой принадлежности принадлежали *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., из почвенного образца выделен – *Alternaria atra* (Preuss) Woudenb. & Crous (= *Ulocladium atrum* Preuss)

Подавляющее большинство (67,4%) выделенных в чистую культуру штаммов грибов принадле-

Таблица – Микромицеты, пополнившую коллекцию ФГБНУ ВНИИФ в 2019 году.

Вид гриба	Шифр штамма	Растение-хозяин
Зерновые культуры		
<i>Collariella bostrychodes</i> (Zopf) X.Wei Wang & Samson (= <i>Chaetomium bostrychodes</i> Zopf)	100174	пшеница
<i>Penicillium solitum</i> Westling (= <i>Penicillium crustosum</i> Thom)	100175	пшеница
<i>Fusarium culmorum</i> (Wm.G. Sm.) Sacc.	ПМ-3с-1	пшеница
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. (комплекс)	100167	кукуруза
Овощные культуры		
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	МОТ-2-18	томат
<i>Trichothecium roseum</i> (Pers.) Link	МОТ-1-18	томат
<i>Mucor luteus</i> Linnem. ex Wrzosek	МОК-18-1	картофель
<i>Cylindrocarpon didymum</i> (Harting) Wollenw.	МОК-18-2	картофель
<i>Fusarium lolii</i> (Wm.G. Sm.) Sacc. (= <i>Fusarium heterosporum</i> Nees & T. Nees)	МОК-18-4	картофель
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. + <i>Sarocladium strictum</i> (W. Gams) Summerb.	МОК-18-5	картофель
<i>Plectosphaerella cucumerina</i> (Lindf.) W. Gams	МОК-18-6	картофель
<i>Myrioconium</i> sp. (Sclerotiniaceae) (возможно микроконидиальная стадия <i>Monilia fructicola</i> L.R. Batra)	100033	картофель
<i>Acremonium rutilum</i> W. Gams	МОМ-1-18	морковь
<i>Fusarium incarnatum</i> (Desm.) Sacc. (= <i>Fusarium semitectum</i> Berk. & Ravenel)	МОМ-2-18	морковь
<i>Neocosmospora solani</i> (Mart.) L. Lombard & Crous (= <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.)	МОМ-7-18	морковь
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	МОМ-8-18	морковь
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	МОП-18-1	перец
Масличные культуры		
<i>Fusarium acuminatum</i> Ellis & Everh.	ПС-3л-1	подсолнечник
<i>Periconia byssoides</i> Pers.	ПС-3л-2	подсолнечник
<i>Colletotrichum</i> sp. (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. & Sacc.)	ПС-3л-3	подсолнечник
<i>Fusarium roseum</i> Link (= <i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel)	ПС-4к-1	подсолнечник
<i>Fusarium lolii</i> (Wm.G. Sm.) Sacc. (= <i>Fusarium heterosporum</i> Nees & T. Nees)	ПС-4к-3	подсолнечник
Древесные и кустарниковые культуры		
<i>Bionectria solani</i> (Reinke & Berthold) Schroers (= <i>Clonostachys solani</i> (Harting) Schroers & W. Gams; = <i>Gliocladium solani</i> (Harting) Petch)	100152	липа
<i>Bionectria solani</i> (Reinke & Berthold) Schroers	100153	липа
<i>Fusarium trichothecioides</i> Wollenw.	100156	ель
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. (комплекс)	100143	сирень
<i>Dichotomopilus funicola</i> (Cooke) X.Wei Wang & Samson (= <i>Chaetomium funicola</i> Cooke)	Ир-3	яблоня
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb. (= <i>Acremonium kiliense</i> Grütz)	Ир-4	рододендрон
<i>Penicillium digitatum</i> (Pers.) Sacc.	МОЛ-19	лимон
Сорные растения		
<i>Coniothyrium</i> sp.1	В1-ПС	вьюнок
<i>Periconia byssoides</i> Pers.	В2-ПС	вьюнок
Ризосфера и почва		
<i>Thelonectria veuillotiana</i> (Roum. & Sacc.) P. Chaverri & Salgado (= <i>Cylindrocarpon candidulum</i> (Sacc.) Wollenw.)	Ир-5	почва
<i>Alternaria atra</i> (Preuss) Woudenberg & Crous (= <i>Ulocladium atrum</i> Preuss)	Ир-6	почва
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx (= <i>Penicillium cyclopium</i> Westling)	100171	почва
<i>Penicillium canescens</i> Sopp	100172	почва
<i>Penicillium solitum</i> Westling (= <i>Penicillium crustosum</i> Thom)	100173	почва
<i>Coniothyrium</i> sp. 2	ПМ-19-3п-1	почва
<i>Fusarium redolens</i> Wollenw.	ПМ-19-3п-4	почва

Окончание таблицы

Вид гриба	Шифр штамма	Растение-хозяин
<i>Mortierella hyalina</i> (Harz) W. Gams	ПМ-19-3п-5	почва
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	ПТ-19-1п-1	почва
<i>Talaromyces ruber</i> (Stoll) N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Samson (= <i>Penicillium rubrum</i> Stoll)	ПТ-19-1п-2	почва
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschn.) Sorokin	ПВ-19-2п-2	почва
<i>Phoma herbarum</i> Westend.	Ир-7	вода

жало к сапротрофам родов: *Chaetomium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Acremonium*, *Botrytis* и др.

Таким образом, в 2019 году Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов была пополнена 43 штаммами сапротрофных и факультативных микромицетов, характеризующихся низкой специализацией к растениям-хозяевам и обладающих высокой способностью к образованию микотоксинов. Микологический анализ образцов пораженных растений и почвы свидетельствует о том, что мониторинг видового состава грибов на сельскохозяйственных культурах и хранение их в коллекции в настоящее время является весьма актуальным для развития стратегии предотвращения негативных последствий от развития болезней.

Список литературы

1. Дубовой В., Жемчужина Н., Елизарова С., Горелов П. Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ // Аналитика. 2016. – 1. – 76-78.
2. Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Елизарова С.А., Дубовой В.П. Влияние способов хранения на жизнеспособность и патогенность штаммов *Alternaria alternata* Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ФГБНУ ВНИИФ // Современная микология в России. Материалы 4-го
3. Ишкова Т.И., Берестецкая Л.И., Гасич Е.Л., Левитин М.М., Власов Д.Ю. Диагностика основных грибных болезней хлебных злаков. С.-Петербург. 2000. – 76 с.
4. Санин С.С., Назарова Л.Н. Фитосанитарная обстановка на посевах пшеницы в Российской Федерации (1991-2008 гг.) // Защита и карантин растений. 2010. – 2. – С. 70-87.
5. Санин С.С., Черкашин В.И., Назарова Л.Н. и соавт. Фитосанитарная экспертиза зерновых культур. Рекомендации. М.: ФГНУ «Росинформагротех». 2002. – 140 с.
6. Платонова Ю.В., Сурин Н.А. География грибов рода *Fusarium* // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 4. – С. 95-97
7. Есауленко, Е.А. Микотоксикологическая оценка сортов пшеницы на устойчивость к фузариозу колоса/Е.А. Есауленко//Защита и карантин растений. – 2002. – № 10. – С. 16
8. Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Абрамова С.Л., Макаров А.А. Новые поступления в Государственную коллекцию фитопатогенных микроорганизмов Всероссийского ВНИИ фитопатологии. Штаммы *Fusarium* spp. // Защита и карантин растений. 2014. – 1. – С. 48-50.

МОБИЛИЗАЦИЯ И ПЕРВИЧНЫЙ АНАЛИЗ КОЛЛЕКЦИЙ *FOMES FOMENTARIUS* НА СРЕДНЕМ И ЮЖНОМ УРАЛЕ

Жуйкова Е.В.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

В настоящее время ограниченность данных о географическом распределении видов и его зависимости от различных условий среды является лимитирующим фактором в экологических и биогеографических исследованиях. Эту проблему призваны решить глобальные базы данных по биоразнообразию как, например, GBIF (gbif.org), которые базируются на локальных оцифрованных данных.

Недостаточность данных касается не только малочисленных, но и массовых, широко распространенных видов. “Обычные” виды не удостоиваются достаточного внимания из-за обильности и распространен-

ности; в лучшем случае отмечается их присутствие на какой-то территории: исследуемой геоботанической площадке, участке или маршруте, в административном районе или области (Степанова-Картавенко, 1967; Мухин и соавт., 2003). Их представители крайне редко попадают в сборы, а, следовательно, и в коллекции музеев и гербариев. Результатом такого подхода является отсутствие данных для глубокого анализа и статистической обработки.

Один из таких видов – настоящий трутовик *Fomes fomentarius* (L.) Fr. 1849 (Basidiomycota, Agaricomycetes), который является основным деструктором листовен-

ной древесины в лесах Северного полушария. Его ареал охватывает Северную Америку, Евразию и северную Африку (Schmidt, 2006). Значительная его часть расположена на территории России, однако, на конец февраля 2020 г. в Глобальной информационной системе о биоразнообразии GBIF зарегистрировано всего 408 находок, 4 из которых подкреплены гербарными образцами, что составляет меньше 1% и около 0,2% от общего числа таковых в мире соответственно (по запросу *Fomes fomentarius* на сайте gbif.org). В последнее время интерес к этому виду трутовых грибов возрос в связи с молекулярно-генетическими исследованиями, которые выявили наличие его сложной внутривидовой структуры и, возможно, существование комплекса видов. Одним из этапов анализа этой системы является изучение экологии и географии, что невозможно без инвентаризации.

Создание базы данных *Fomes fomentarius* на территории Урала на основе гербарных образцов, хранящихся в Институте экологии растений и животных УрО РАН, стало нашей целью. В нее вошли данные о плодовых телах из двух источников: мобилизованные и оцифрованные автором из коллекции д.б.н., профессора В.А. Мухина и электронный каталог Музея ИЭРиЖ УрО РАН (SVER).

Первая из них насчитывает 74 плодовых тела. Они были собраны в период с 1994 по 2019 гг.; большая часть – в 2000-ых: 2002 г. (21 образец), 2016 г. (9 образцов), 2018 г. (29 образцов) и 2019 г. (9 образцов). Свой вклад как коллекторы внесли В.А. Мухин (25 гербарных образцов), Н.В. Ушакова (16 гербарных образцов) и Е.В. Жуйкова (33 гербарных образца). На данный момент удалось установить географическую привязку для 71 находки. Так, 26 базидиокарпов было собрано в Костанайской области Республики Казахстан. 45 образцов было собрано на территории РФ, а именно в Свердловской (23), Челябинской (12), Оренбургской (5) областях и в Республике Башкортостан (5). Преобладающими субстратами в коллекции являются древесные остатки *Betula* и *Populus*, на которых были обнаружены 27 и 22 плодовых тела соответственно. Немногочисленными

находками представлены образцы с *Salix* (7), *Acer* (7), *Alnus* (6), *Padus* (1), *Sorbus* (1), *Tilia* (1) и *Ulmus* (1).

Вторая часть базы данных (65 записей о целевом объекте и территории) была получена в виде электронной таблицы MS Excel от заведующего Музеем Н.Г. Ерохина и содержала данные гербария Музея ИЭРиЖ УрО РАН с акронимом SVER. Все образцы в ней были собраны в РФ: 45 в Свердловской, 14 в Курганской, по 2 в Тюменской и Челябинской областях, также 2 в Республике Башкортостан. Коллекция, датируемая с 1950 до 2002 гг., наиболее активно пополнялась в 1962-63 гг. Л.К. Казанцевой, А.В. Сирко, М.М. Сторожевой, в 1983 и 1986 гг. Н.Т. Степановой и В.А. Мухиным, и в 1996-97 гг. О.А. Храмовой и Е.В. Брындиной. Преобладающим субстратом в выборке является *Betula* (62 плодового тела); также отмечен один базидиокарп с *Ulmus*.

В результате объединения данных двух коллекций база на данный момент насчитывает 139 записей. Сейчас ведется работа по ее преобразованию в соответствии с форматом Darwin Core для загрузки в Глобальную информационную систему о биоразнообразии GBIF. Высококачественные данные о гербарных образцах *F. fomentarius* позволят изучить его распространение, а также станут заделом для морфологических и молекулярно-генетических исследований.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН (AAAA-A19-119031890084-6), а также частично поддержана РФФИ и Правительством Свердловской области (проект № 20-44-660012).

Список литературы:

1. Степанова-Картавенко Н.Т. Афиллофоровые грибы Урала. Свердловск: РИСО УФАН СССР, 1967. 295 с.
2. Мухин В.А., Третьякова А. С., Прядеин Д. В. и соавт. Растения и грибы национального парка «Припышминские боры». Екатеринбург: Изд-во Урал. Ун-та, 2003. 204 с.
3. Schmidt O. Wood and Tree Fungi: Biology, Damage, Protection, and Use. Springer, 2006. 348 p.

Национальная академия микологии

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 8

Volume 8

Выпуск 2.

Биоразнообразие и экология грибов

Issue 2.

Fungal biodiversity and ecology

Глава 3.

Биоразнообразие и охрана грибов

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.03

Chapter 3.

Biodiversity and conservation of fungi

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.03

Глава 4.

Экология грибов

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.04

Chapter 4.

Fungal ecology

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.04

Глава 5.

Экстремофилы.

Грибы в Арктике, Антарктике и ближнем космосе

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.05

Chapter 5.

Mycota of the extreme and extraterrestrial habitats, Russian Arctic and Antarctica

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.05

Содержание выпуска 2

Глава 3. Биоразнообразие и охрана грибов

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЫ (УЗБЕКИСТАН) Абдуразаков А.А., Хамрохужаев А., Мамадаминов Р., Бултуров Д., Гаффоров Ю.Ш.	64
КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПОЧВЫ И РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА СОНГТХАНЬ Алдобаева И.И., Антонов Е.А., Александрова А.В.	66
ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МАКРОМИЦЕТОВ БОТАНИЧЕСКОГО САДА БФУ им. И. КАНТА Г. КАЛИНИНГРАД Атаев Б.У., Володина А.А.	67
СУБСТРАТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ КСИЛОБИОНТНЫХ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ Большаков С.Ю.	69
БАЗА ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ О НАХОДКАХ ГРИБОВ СЕВЕРА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ Филиппова Н.В.	71
НОВЫЙ ШТАММ <i>ACIDOMYCES ACIDOPHILUS</i> ИЗ АЦИДОФИЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК ПЕЩЕРЫ ШЕКИ-ХЪХ (РОССИЯ, ЧЕЧЕНСКАЯ РЕСПУБЛИКА) Галимзянова Н.Ф., Кузьмина Л.Ю., Гильванова Е.А., Рябова А.С., Мелентьев А.И., Червяцова О.Я.	73
ВИДЫ РОДА <i>SULLUS</i> GRAY (<i>SULLACEAE</i>) В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ Ивойлов А.В.	74
МОНИТОРИНГ ОХРАНЯЕМЫХ ГРИБОВ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ Ивойлов А.В.	75
НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПЛЕЩЕЕВО ОЗЕРО» (ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ) Кондакова Г.В.	77
АФИЛЛОФОРОВЫЕ ГРИБЫ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ: ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ Коткова В.М., Колганихина Г.Б.	78
ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ И МОНИТОРИНГ МИКОБИОТЫ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ РОССИЙСКОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА. Крапивина Е.А., Козьминов С.Г., Кушалиева Ж.А., Тайсумов М.А., Гадаборашева М.А., Берсанова А.Н., Дакиева М.К.	80
ГРИБЫ СЕМЕЙСТВА <i>GEASTRACEAE</i> : РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ОСНОВНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ В ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ Курочкин С.А.	82
МИКОБИОТА ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ОКРЕСТНОСТЕЙ ГОРОДА КАДЖАРАН (РЕСПУБЛИКА АРМЕНИЯ) Матевосян Р.Э., Элоян И.М., Шахазизян И.В., Есаян Т.А., Нанагюлян С.Г.	84
ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКСОМИЦЕТАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКАЗНИКА «ГЛЕБОВКА» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ) Мороз Е.Л.	85
ФЕНОЛОГИЯ ВЕСЕННИХ ГРИБОВ В ПОЛЕВОЙ СЕЗОН 2019 ГОДА Нагуманов Ш.З.	87
ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИЕ БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ ЛЕСОВ ЗАПАДНЫХ ПРЕДГОРИЙ ЮЖНОГО УРАЛА Сафонов М.А.	89
ИМЕЕТСЯ ЛИ СВЯЗЬ МЕЖДУ ВИДОВЫМ БОГАТСТВОМ ГРИБОВ И СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ В КОНТИНЕНТАЛЬНОМ МАСШТАБЕ? Ширяев А.Г.	90
НОВАЯ НАХОДКА ВЕСЕЛКИ АДРИАНА (<i>PHALLUS HADRIANI</i> PERS.) – РЕДКОГО ВИДА ГАСТЕРОМИЦЕТОВ ДЛЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ Шумкова О.А., Криворотов С.Б.	91
РЕВИЗИЯ ВИДОВОГО СОСТАВА ООМИЦЕТОВ В ЗАИЛИЙСКОМ АЛАТАУ Сыпабеккызы Г., Рахимова Е.В., Асылбек А.М., Ермекова Б.Д., Кызметова Л.А.	92
МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ НА КОСМИЧЕСКИХ СТАНЦИЯХ И ИХ ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ Алехова Т.А., Александрова А.В., Осмоловский А.А., Тиморшина С.Н., Гесслер Н.Н., Новожилова Т.Ю., Загустина Н.А.	94

Глава 4. Коллекции и гербарии

ПСИХРОТОЛЕРАНТНЫЕ ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ПРИ САМОЛЕТНОМ ЗОНДИРОВАНИИ АТМОСФЕРЫ НАД ВАСЮГАНСКИМИ БОЛОТАМИ Андреева И.С., Сафатов А.С., Соловьянова Н.А., Жиравковская Е.В., Пучкова Л.И., Буряк Г.А., Охлопкова О.В.	97
НЕОБЫЧНАЯ НАХОДКА В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ЭНТОМОПАРАЗИТИЧЕСКОГО ГРИБА <i>CORDYCEPS FARINOSA</i> В КАЧЕСТВЕ ГИПЕРПАРАЗИТА РЖАВЧИННОГО ГРИБА <i>COLEOSPORIUM TUSSILAGINIS</i> Борисов Б.А.	99
ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ В МАКРОФИТАХ БЕЛОГО МОРЯ Буркин А.А., Кононенко Г.П., Георгиев А.А., Георгиева М.Л.	100
ДРОЖЖЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ УРБАНАЗЕМОВ НЕКОТОРЫХ ЮЖНЫХ ГОРОДОВ РОССИИ (СОЧИ, СИМФЕРОПОЛЬ, КРАСНОДАР, МАЙКОП) Глушакова А.М., Качалкин А.В., Максимова И.А., Умарова А.Б.	102
ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВОЙ ГНИЛИ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЯХ ТОПОЛЯ БАЛЬЗАМИЧЕСКОГО (<i>POPULUS BALSAMIFERA L.</i>) В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗАЦИИ Колтунов Е.В.	104
БИОМАССА ГРИБОВ И ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМОЙ МИКОБИОТЫ г. АПАТИТЫ, МУРМАНСКАЯ ОБЛАСТЬ Корнейкова М.В., Сошина А.С., Никитин Д.А.	107
ФОРМИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСА МИКРОМИЦЕТОВ, ЗАСЕЛЯЮЩИХ СУБСТРАТ, ПРИ ВНЕСЕНИИ БИОПРЕПАРАТОВ Лапина В.В., Дудникова С.А., Жемчужина Н.С.	107
ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С КОРОЕДОМ-ТИПОГРАФОМ, И ОСОБЕННОСТИ ИХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ Леднев Г.Р., Казарцев И.А., Левченко М.В.	109
РАЗВИТИЕ ГРИБОВ В УСЛОВИЯХ МЕНЯЮЩЕГОСЯ КЛИМАТА Мамедов М.М.	111
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА МИКРОМИЦЕТЫ ПОЧВЫ Масленников А.А., Демидова С.А., Антонов В.А.	113
РЕАКЦИЯ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИЕ СОСТАВЫ Мшенская Н.С., Стручкова И.В.	114
ЭКОЛОГО-ЦЕНОТИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НАХОДКИ ГИГАНТСКОГО ТРУТОВИКА (<i>MERIPILUS GIGANTEUS</i>) В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ А.Г. Мясников, И.В. Змитрович, Н.И. Калиновская, С.П. Арефьев	115
МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ КАК ИНДИКАТОР ТИПА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ Никитин Д.А., Иванова Е.А., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Железова А.Д., Кутюва О.В.	116
<i>ASPERGILLUS NIGER</i> В ГЕОМИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Сазанова К.В., Франк-Каменецкая О.В.	118
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ИЗ ОБРАЗЦОВ ПОЧВЫ ТЕРРИТОРИИ СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ Половец Н.В., Суркова Р.С., Шергина О.А., Буй Т.Л.А., Липницкий А.В., Шаров Т.М.	120
ДЕСТРУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВ С ПОЗИЦИЙ СИМБИОТРОФИЗМА Стороженко В.Г.	121
РОЛЬ МИКРОМИЦЕТОВ В УСТОЙЧИВОСТИ КОНСОРЦИЙ С ДОМИНИОВАНИЕМ ВОДОРΟΣЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ Суандзара Б.Р., Попкова А.В., Машина С.Е.	123
ДРОЖЖЕВЫЕ СООБЩЕСТВА ПОЧВ МОСКВЫ Тепеева А.Н., Глушакова А.М., Качалкин А.В.	124
ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОЧВ НА СТАБИЛЬНОСТЬ МИКОИНДИКАЦИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ Терехова В.А., Прудникова Е.В., Федосеева Е.В., Якименко О.С., Иванова А.Е.	125
ПРИМЕНЕНИЕ СПОР ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА <i>LECANICILLIUM MUSCARIUM</i> (<i>ASCOMYCOTA: HYPOCREALES</i>) ПРОТИВ САМШИТОВОЙ ОГНЕВКИ В ПЕРКАЛЬСКОМ ДЕНДРОЛОГИЧЕСКОМ ПАРКЕ И НАЛЬЧИКЕ Варфоломеева Е.А., Митина Г.В., Чоглокова А.А.	127

Глава 5. Экстремофилы. Грибы в Арктике, Антарктике и ближнем космосе

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА. Балтина И.Ю., Крашенинникова Т.К., Синчурина Е.В.	129
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ ПРИ ПРЕОДОЛЕНИИ ПЛОТНЫХ СЛОЕВ АТМОСФЕРЫ В МИКРОПОЛОСТЯХ БАЗАЛЬТОВЫХ МЕТЕОРИТОВ Дьяков М.Ю., Александрова А.В., Апрышко В.П., Ильин В.К., Поддубко С.В.	130
ГРИБЫ-ЭКСТРЕМОФИЛЫ РОДА <i>EMERICELLOPSIS</i> (<i>HYPOCREALES</i>) В СОДОВЫХ СОЛОНЧАКАХ — ТАКСОНОМИЯ, ОСОБЕННОСТИ ЭКОФИЗИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ Георгиева М.Л., Бондаренко С.А., Биланенко Е.Н., Ефименко Т.А., Куварина А.Е., Гаврюшина И.А., Рогожин Е.А., Садыкова В.С.	131
ДИНАМИКА КОМПЛЕКСОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ПРОЦЕССЕ ЗАРАСТАНИЯ УГОЛЬНЫХ ОТВАЛОВ В УСЛОВИЯХ АРКТИКИ Ильющин В.А., Кирцидели И.Ю.	133
ОРНИТОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА МИКОБИОТУ ПОЧВ В РАЙОНЕ ПОЛЯРНЫХ СТАНЦИЙ В АНТАРКТИКЕ Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Панин А.Л., Краева Л.А.	134
ГРИБНЫЕ СООБЩЕСТВА ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ (НА ПРИМЕРЕ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ) КАК АСТРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ВНЕЗЕМНЫХ УСЛОВИЙ Крючкова М.О., Воробьева Е.А., Иванова А.Е., Чепцов В.С., Павлов А.К.	135
БИОМАССА МИКОБИОТЫ И ЧИСЛЕННОСТЬ КОПИЙ РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ITS ГРИБОВ В ПОЧВАХ СЕВЕРА НОВОЙ ЗЕМЛИ Никитин Д.А., Ксенофонтова Н.А., Тхакахова А.К.	137
ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОЙ КРИОТУРБАЦИИ И ОБРАЗОВАНИЯ ПОЛИГОНАЛЬНЫХ ТУНДР АРКТИКИ Павлов И.Н., Литовка Ю.А.	139
МИКРОМИЦЕТЫ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЗОН УЗБЕКИСТАНА Ташпулатов Ж.Ж., Бахтиерова М., Зайнитдинова Л.И.	141
ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ НА СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ Терешина В.М., Януцевич Е.А., Бондаренко С.А., Данилова О.А., Биланенко Е.Н.	141
МИКРОМИЦЕТЫ ОЧАГОВ ПЛЕСНЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ ДРЕВЕСИНЫ В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР Тригубович А.М., Гончарова И.А., Гигиняк Ю.Г., Иванов И.В.	143

Глава 3.

Биоразнообразии и охрана грибов

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.03

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЫ (УЗБЕКИСТАН)

Абдуразаков А.А.¹, Хамрохужаев А.², Мамадаминов Р.², Бултуров Д.¹, Гаффоров Ю.Ш.³

¹Андижанский государственный университет, Узбекистан;

²Наманганский государственный университет, Узбекистан;

³Институт Ботаники, Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Многие афиллофороидные грибы, будучи важными гетеротрофными компонентами лесных экосистем, также являются патогенами деревьев. Разрушая древесину живых деревьев и вызывая стволовые и комлевые гнили, они причиняют тем самым огромный ущерб зеленым насаждениям в таких лесодефицитных регионах Евразии, как Средняя Азия в целом и Ферганская долина в частности.

Ферганская долина является огромной межгорной впадиной в горах Средней Азии, большей частью располагаясь на территории Узбекистана (Андижанская, Ферганская и Наманганская области) и частично – Кыргызстана и Таджикистана. По форме она напоминает эллипс длиной около 300 км и шириной до 170 км, общей площадью около 22 тыс. км², а вместе с прилегающими горами – почти 80 тыс. км² [1]. Ферганская долина практически окружена горными хребтами: на северо-западе – Кураминским и Чаткальским, на северо-востоке – Ферганским, на юге – Туркестанским и Алайским, высоты которых достигают 5000 м над уровнем моря [1]. Растительность Ферганской долины имеет преимущественно ксерофильный характер и представлена как аридными типами растительности – опустыненными степями и пустынными зарослями галофильных, псаммофильных, ксерофильных и гипсофильных полукустарников, так и гумидными типами растительности – горными лесами: арчевниками, ореховыми и хвойными лесами, а также песчано-тугайным растительным комплексом вблизи рек и каналов [2]. Центральная часть Ферганской долины занята преимущественно опустыненными степями и пустынями, часто засоленными (солончаки), из которых крупнейшими являются Язъяванская и Каракалпакская степи, покрытые частично песками и солончаками с полупустынной и пустынной растительностью. В долине Сырдарьи преобладают, а вокруг него обширную площадь занимают орошаемые земли, занятые преимущественно культурной растительностью: посевами хлопчатника и риса, садами, виноградниками, бахчами, огородами. На склонах Ферганского и Чаткальского хребтов произрастают леса из грецкого ореха, яблони, алычи, боярышника, в оазисах – тополя, вяза, лох (джида), платан (чинара) и различные культурные деревья и кустарники: шелковица, грецкий орех, миндаль, персик, абрикос, слива, яблоня, груша, айва, инжир, гранат [2]. Флора высших

растений Ферганской долины можно считать умеренно богатой: здесь встречаются по меньшей мере 2625 видов высших растений, в том числе около 100 видов деревьев и кустарников [2].

Первые сведения о грибах Ферганской долины были получены известными советскими микологами Н.Г. Запрометовым [3, 4] и П.Н. Головиным [5, 6]. После их работ были опубликованы лишь отдельные списки афиллофороидных грибов для Узбекистана [7]. Все полученные сведения были обобщены в 1980-х годах, когда была выпущена серия определителей «Флора грибов Узбекистана» [8]. Изучение макромицетов и микромицетов Ферганской долины продолжилось в начале XXI века [9, 10]. Однако Ферганская долина до сих пор является относительно слабо изученной в микологическом отношении, и данные об афиллофороидных грибах Ферганской долины остаются скудными. В связи с этим при проведении микологических исследований нами были поставлены следующие цели: установить видовой состав, а также провести анализ таксономической структуры и эколого-трофических особенностей трутовых грибов в Ферганской долине.

Сбор образцов производился маршрутно-экспедиционным методом на территории Ферганской долины. Гербаризация и хранение образцов велись по общепринятым методикам [11]. Основным методом идентификации видовой принадлежности грибов являлось микроскопирование плодовых тел грибов и временных препаратов спор, проводившееся по стандартным методикам с использованием оптических микроскопов МБИ-3 и БИОЛАМ на базе лаборатории микологии Института Ботаники Академии наук Республики Узбекистан (ИБ АН РУз). Идентификация собранных образцов производилась по соответствующим определителям [12, 13, 14, 15, 16]. Названия таксонов грибов приведены в соответствии с открытой базой данных Mucobank [17]. Собранные материалы хранятся в коллекции грибов ИБ АН РУз (Ташкентский микологический гербарий TASM).

На основе собранных материалов, а также имеющихся литературных данных [7, 9, 10] и результатов собственных полевых исследований был составлен список видов афиллофороидных грибов Ферганской долины. К настоящему времени на территории Ферганской долины выявлено 28 видов трутовых грибов, относящихся к 20

родам, 7 семействам и 4 порядкам класса *Agricomycetes* отдела *Basidiomycota*. Ведущими по численности видов семействами на изученной территории является семейство *Polyporaceae* (9 родов, 14 видов), представленное следующими видами: *Cerrena unicolor* (Bull.) Murrill, *Cerrioporus squamosus* (Huds.) Quél., *Corioloopsis gallica* (Fr.) Ryvarden., *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Lentinus arcularius* (Batsch) Zmitr., *L. tigrinus* (Bull.) Fr., *Pyrofomes demidoffii* (Lév.) Kotl. & Pouzar, *Pycnoporus cinnabarinus* (Jacq.) P. Karst., *Trametes ochracea* (Pers.) Gilb. & Ryvarden, *T. hirsuta* (Wulfen) Lloyd., *T. tephroleuca* Berk., *T. versicolor* (L.) Lloyd, *Neolentinus cyathiformis* (Schaeff.) Della Magg. & Trassin. и *N. lepideus* (Fr.) Redhead & Ginns. Вторым по численности является семейство *Hymenochaetaceae* (5 родов, 8 видов), представленное *Fomitiporia robusta* (P. Karst.) Fiasson & Niemelä, *Tropicoporus linteus* (Berk. & M.A. Curtis) L.W. Zhou & Y.C. Dai., *Phellinus igniarius* (L.) Quél., *Ph. pini* (Brot.) Pilát., *Ph. pomaceus* (Pers.) Maire, *Ph. rimosus* (Berk.) Pilát, *Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst. и *Sanghuangporus lonicerinus* (Bondartsev) Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai. Третье место занимает *Fomitopsidaceae* (3 родов, 3 вида), из числа которого отмечены *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai, *Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat. и *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. 5 семейств афиллофороидных трутовых грибов, отмеченных на исследованной территории, представлены единственным видом: *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. (*Meruliaceae*), *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (*Ganodermataceae*), *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray. (*Grifolaceae*), *Schizophyllum commune* Fr. (*Schizophyllaceae*), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (*Stereaceae*).

Большинство видов грибов, выявленных на обследованных территориях, являются факультативными паразитами, которые обычно развиваются на отмершей древесине, но способны вызывать гнили у живых древесных растений, при определенных условиях поселяться и некоторое время развиваться на живых деревьях, особенно ослабленных подтоплением, пожаром, механическими повреждениями. К ним относятся *Cerrena unicolor*, *Bjerkandera adusta*, *Fomitopsis betulina*, *Ganoderma applanatum* и многие другие виды. Менее многочисленны группы облигатных сапротрофов, которые развиваются только на мертвой древесине (*Corioloopsis gallica*, *Lentinus arcularius*, *L. tigrinus*) и факультативных сапротрофов, которые заселяют живые деревья, но могут некоторое время развиваться на уже отмершей древесине (*Laetiporus sulphureus*, *Pyrofomes demidoffii*, *Phellinus igniarius*, *Ph. pomaceus*, *Ph. rimosus*, *Inonotus hispidus*, *Sanghuangporus lonicerinus*).

Список литературы

1. Бабушкин Л.Н., Когай Н.А. Физико-географическое районирование Узбекской ССР. // Науч. труды ТашГУ. 1964. Нов. серия. Вып. 231. Географ, науки, кн. 27. Ташкент: ТашГУ, Ташкент. 263 с.
2. Арифханова М.М. Растительность Ферганской долины. Ташкент: ФАН, 1967. 294 С.
3. Запрометов Н.Г. Материалы по микофлоре Средней Азии Ташкент: Фитопатологический отдел Узб. оп. СТАЗРА, 1926. Вып. 1. С. 1–36
4. Запрометов Н.Г. Материалы по микофлоре Средней Азии Ташкент: Фитопатологический отдел Узб. оп. СТАЗРА, 1928. Вып. 2. С. 1–70
5. Головин П.Н. Грибы песчаных пустынь Средней Азии. Тр. Узбекстанского филиала АН СССР, сер. XI, вып. 1, Ташкент, 1941
6. Головин П.Н. Новые виды грибов Средней Азии. Новая серия, вып. XIV, кн. 6. Среднеаз. Гос. Университет, Ташкент, 1950
7. Балтаева Г.М. Трутовые грибы (*Polyporaceae* S. Lato) Узбекистан Микромицеты сосудистых растений Наманганской области: Автореф. дисс... канд. биол. наук. Санк-Петербург, 1992. 17 с.
8. Флора грибов Узбекистана. В 7 т. Ташкент: Фан, 1983–1985.
9. Гаффоров Ю.Ш. Микромицеты сосудистых растений Наманганской области: Автореф. дисс... канд. биол.наук. Ташкент, 2005. 21 с.
10. Иминова М.М. Макромицеты Ферганской долины (в пределах Республики Узбекистан): Автореф. дисс... канд. биол.наук.Ташкент, 2009. 22 с.
11. Наумов Н.А. Методы микологических и фитопатогенных исследований. М.; Л.: Сельхозгиз, 1937. 272 с.
12. Бондарцева М.А. Определитель грибов России. Афиллофоровые. Вып. 1. СПб.: Наука, 1986. 192 с.
13. Бондарцева М.А. Определитель грибов России. Афиллофоровые. Вып. 2. СПб.: Наука, 1998. 391 с.
14. Julich W., Stalpers J.A. The resupinate non-poroid Aphyllophorales of the Northern Hemisphere. Amsterdam-Oxford-New York: North-Holland Publ., 1980. 335 p.
15. Hansen L., Knudsen H. Nordic macromycetes. Vol. 2. Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales. Copenhagen: Nordsvamp, 1992. 474 p.
16. Hansen L., Knudsen H. Nordic macromycetes. Vol. 3. Heterobasidioid, aphyllorphoroid and gasteromycetoid basidiomycetes. Copenhagen: Nordsvamp, 1997. 444 p.
17. Mycobank. URL: <http://www.mycobank.org> (дата обращения: 27.02.2020 г.)

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПОЧВЫ И РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА СОНГТХАНЬ

*Алдобаева И.И., Антонов Е.А., Александрова А.В.
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова*

Известно, что площади ненарушенных лесов тропиков стремительно сокращаются в связи с антропогенной нагрузкой, что ведет к уменьшению разнообразия всех групп живых организмов, населяющих эти леса, в том числе уменьшается и численность видов почвенных микромицетов. Однако интересы микологов, исследующих тропические регионы, по большей части сосредоточены на изучении конкретных групп микроскопических грибов, имеющих практическое значение – патогенных для растений или животных и человека, продуцентов биологически активных веществ. В связи с чем сведения об общем разнообразии микромицетов в почвах тропических регионов всё ещё актуальны, особенно в тех районах, где сохранились практически не нарушенные первичные полидоминантные леса.

В ходе предыдущих исследований, было выявлено довольно большое разнообразие почвенных микроскопических грибов лесов различных регионов Вьетнама (Kalashnikova, Aleksandrova, 2015; Kalashnikova et al., 2016; Aleksandrova et al., 2018, Александрова А.В., Алдобаева И.И.). Микроскопические грибы там, как, впрочем, и в других местообитаниях, заселяют все типы доступных субстратов, активно участвуют в разложении растительных остатков и образуют множество биотических связей с другими компонентами природных сообществ. Поэтому из почвы и связанных с ней субстратов можно выделить представителей целого спектра эколого-трофических групп микромицетов.

В связи с этим целью настоящей работы стало исследование таксономической структуры и функциональной активности комплексов микроскопических грибов в почве и на растительном опаде различных биотопов полидоминантного тропического леса.

Материал для обработки был собран в апреле-мае 2019 года на особо охраняемой территории Вьетнама, в природном заповеднике Сонгтхань (Sông Thanh Nature Reserve), расположенном на территории провинции Куангнам. Этот заповедник входит в один из самых больших сохранившихся районов тропических лесов во Вьетнаме и Лаосе и расположен на пересечении нескольких биогеографических районов. Рельеф места исследования представляет собой сильно эродированные плато, изрезанные узкими долинами рек и хребтами между ними на высотах 900–1200 метров над уровнем моря.

Всего было собрано и обработано 100 образцов (по 10 каждого типа субстратов с четырех участков: почвы, опада и субстрата из корзинок эпифитных папоротников). Сбор был проведен в типичных биотопах исследованных лесных массивов. Образцы отбирали по стандартной методике. Площадки сбора материала различались по составу доминирующих древесных пород, высотой над уровнем моря, степенью разложения растительных остатков и рядом других характеристик.

Лабораторная обработка собранных образцов проведена на кафедре микологии и альгологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова в период

с июня по сентябрь 2019 г. Выделение микромицетов было выполнено методом посева из серийных разведений (в 1000 раз) на два типа сред: Чапек и сусло-агар (Методы..., 1991).

Представленность видов оценивали по показателям пространственной частоты встречаемости и относительного обилия видов. Для характеристики видового состава почвенных грибов разных местообитаний использовали понятие комплекса типичных видов, выделяемого на основе частоты встречаемости (Мирчинк и др., 1982).

Идентификация проведена на основании культурально-морфологических признаков, использовали общепринятые определители и статьи, содержащие обработки отдельных родов и описания новых видов.

Видовое богатство и видовое разнообразие комплексов микроскопических грибов изученных местообитаний и субстратов в заповеднике Сонгтхань довольно велико. Эти показатели, в целом, несколько выше, чем по другим изученным ООПТ Вьетнама. Это может быть связано с малой антропогенной нагрузкой на леса в данном заповеднике.

Всего в исследованном природном заповеднике из высевов почвы, опада с почвы и субстрата из корзинок эпифитных папоротников («воздушная почва») выявлено 165 видов, относящихся к 56 родам и 26 неспороносящих форм культивируемых микроскопических грибов. Среди них новыми для Вьетнама являются 22 вида из 19 родов, их которых 5 родов, не были отмечены в ходе предыдущих исследований во Вьетнаме. Были обнаружены как характерные виды, выявляемые довольно часто, так и редкие тропические виды.

В результате работы в заповеднике Сонгтхань коллекция микромицетов Вьетнама пополнилась на 120 культур, хранящихся на кафедре микологии и альгологии МГУ. С культурами проводится работа по изучению их потенциала как продуцентов биологически активных веществ, представляющих интерес для фармакологов. Со стерильными формами проводится работа по идентификации молекулярными методами.

При сравнении численности культивируемых грибов в изученных местообитаниях и субстратах показано, что количество КОЕ микромицетов было закономерно ниже в почве всех местообитаний, а наибольших значений достигало в опаде с почвы, а субстрат из корзинок эпифитных папоротников имел промежуточные значения. Самым низким КОЕ было в почве первичного леса на хребте, а самым высоким в опаде из леса в долине ручья.

Сравниваемые местообитания отличаются значительным своеобразием видового состава микроскопических грибов.

Особенностью участка первичного полидоминантного леса на хребте является высокое видовое разнообразие и высокая выровненность видовых обилий, соответственно, большое количество доминирующих и частых видов. Значительная их часть довольно ти-

пичны для Вьетнама, но есть вид, отмеченный впервые в ходе наших исследований – *Ovicillium subglobosum*. Особый интерес может представлять и *Tolyposcladium album*, частый и обильный в этом местообитании. Этот вид выделяется с разных субстратов, отмечался как эндофит растений, потенциально может быть энтомопатогенным, так как образует вещества, подавляющие рост и развитие насекомых и клещей.

Особенностью участка первичного полидоминантного леса в долине ручья является очень высокая встречаемость фитопатогенного гриба *Pestalotiopsis* sp. Он входит в группу доминирующих не только на опаде и субстрате из корзинок эпифитных папоротников, но и в почве. Велика доля и других потенциально фитопатогенных видов (*Apiotrichum sporotrichoides*, *Bionectria byssicola*, *Bionectria pseudochroleuca*, *Chaetosphaeria vermicularioides*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium oxysporum*, *Epicoccum* sp., *Gonytrichum macrocladum*, *Phoma leveillei*, *Virgaria nigra* и *Volutella ciliata*).

Особенностью участка высокоствольного леса с преобладанием *Dipterocarpus hasseltii* является исключительное доминирование в почве и в меньшей степени на опаде представителей рода *Penicillium*, что не характерно для тропических почв. Интересно отметить присутствие как частого вида *Aspergillus stromatoides*, отмеченного в наших работах во Вьетнаме впервые.

Общих видов между различными исследованными участками только 19, а при анализе с учетом и субстратов, и местообитаний количество общих видов значительно сокращается до 4: *Cladosporium oxysporum*, *Pestalotiopsis* sp., *Tolyposcladium album* и *Trichoderma harzianum*. Это наиболее типичные и распространенные культивируемые микроскопические грибы заповедника Сонгхань. Они характерны и для других изученных ООПТ Вьетнама.

При анализе данных с помощью метода ординации показано, что изученные местообитания сильно отличаются по составу комплексов культивируемых микромицетов. Наибольшее своеобразие имеют грибы почвы первичного леса на хребте и субстрата из корзинок эпифитов долинного леса. Какой-либо закономерности группировки видовых комплексов выявить не удастся.

Оценки степени изученности видового состава почвообитающих микромицетов, выявляемого посевом из серийных разведений, варьируют от 63% до 86%. Эти данные говорят о высокой неоднородности распределения видов микромицетов в этом местообитании, и о том, что изучение этого места весьма перспективно и при дальнейшем исследовании должно быть выявлено много не обнаруженных ранее видов микроскопических культивируемых грибов.

Список литературы:

1. Калашникова К.А., Александрова А.В. Почвообитающие микроскопические грибы предгорного тропического леса (лесхоз Лок Бак, Южный Вьетнам) // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49, вып. 2. С. 91—101.
2. Калашникова К.А., Коновалова О.П., Александрова А.В. Почвообитающие микроскопические грибы муссонного диптерокарпового леса (Заповедник Донг Най, Южный Вьетнам) // Микология и фитопатология. 2016. Т. 50, вып. 2. С. 97—107.
3. Калашникова К. А., Александрова А. В. Почвообитающие микроскопические грибы Национального парка «Би Дуп-Нуй Ба» (Южный Вьетнам) // Микология и фитопатология. 2014. Т. 48, вып.6. С. 355—364.
4. Alexandrova A.V., Aldobaeva I.I., Kalashnikova K.A., Kuznetsov A.N. Influence of Environmental Factors on the Structure of Soil Microfungi of Vietnamese Tropical Forests. // Contemporary Problems of Ecology. 2018. N 11(5). P. 472—483.
5. Александрова А.В., Алдобаева И.И. Почвообитающие микроскопические грибы светлого диптерокарпового леса (национальный парк Йок Дон, Вьетнам) // Микология и фитопатология. 2018. Т. 52, вып.1 С. 22 —29.
6. Методы почвенной микробиологии и биохимии (Metody...) / Под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Издательство МГУ, 1991. 304 с.
7. Мирчинк Т. Г., Озерская С. М., Марфенина О. Е. Выявление комплексов микроскопических грибов по их структуре // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. 1982. № 11. С. 61—66.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МАКРОМИЦЕТОВ БОТАНИЧЕСКОГО САДА БФУ ИМ. И. КАНТА Г. КАЛИНИНГРАД

Атаев Б.У., Володина А.А.

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград.

Ботанический сад БФУ им. Канта, располагается на северо-западе города Калининграда на территории бывшего городского Кенигсбергского садоводства и занимает площадь 13,57 га. На территории располагаются дендрарий, оранжереи, водоемы, питомник древесных растений. Предыдущие исследования биоты грибов сада проводились в 2004-2006 гг. (Володина, Амеличкина, 2006), когда было выявлено 147 видов относящихся 68 родам.

В результате исследований в октябре 2019 года, было найдено всего 104 вида, что связано с более короткими сроками сбора материала. Сверку латинских названий видов и систематического положения выполняли согласно сайту Indexfungorum.org. Всего за период с 2004 по 2019 гг. в ботаническом саду обнаружено 215 видов макромицетов, которые относятся к 94 роду, 40 семействам. Лидирующее положение занимают эктомикоризные грибы и подстилочные сапротрофы.

Большинство видов приходится на группы семейств трихоломовых (75 видов в 9 семействах), сыроежковых (36) и паутинниковых (20). По числу видов на первом месте род *Мусена* (22), на втором *Russula* (21), на третьем *Lactarius* (15).

Список макромицетов ботанического сада БФУ им. И. Канта по данным 2004-2019 гг.:

Basidiomycota (208 видов):

- Сем. Agaricaceae: *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers., *Cyathus striatus* (Huds.) Willd. *Echinoderma aspera* (Weinm.) P. Kumm., *Lepiota cristata* (Bolton) P. Kumm., *L. subincarnata* J.E. Lange, *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser, *Chlorophyllum brunneum* (Farl. & Burt) Vellinga, *Apioperdon pyriforme* (Schaeff.) Vizzini, *Lycoperdon perlatum* Pers., *L. pratense* Pers., *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc., *A. bisporus* (J.E. Lange) Imbach, *A. comtulus* Fr., *A. moelleri* Wasser (*A. placomyces*), *A. sylvaticus* Schaeff., *A. sylvicola* (Vittad.) Peck., *A. xanthodermus* Genev., *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd.
- Сем. Amanitaceae: *Amanita muscaria* (L.) Lam. *A. phalloides* Secr., *A. rubescens* Pers.
- Сем. Auriscalpiaceae: *Artomyces pyxidatus* (Pers.) Jülich.
- Сем. Bankeraceae: *Hydnellum aurantiacum* (Batsch) P. Karst.
- Сем. Bolbitiaceae: *Bolbitius titubans* (Bull.) Fr., *Conocybe blattaria* (Fr.) Kühner, *C. semiglobata* Kühner & Watling.
- Сем. Cantharellaceae: *Cantharellus cinereus* (Pers.) Fr., *Rickenella fibula* (Bull.) Raitelthel, *Pseudocraterellus undulatus* (Pers.) Rauschert.
- Сем. Coprinaceae: *Panaeolina foenisecii* (Pers.) Maire. *Insertae sedis*
- Сем. Fomitopsidaceae: *Daedalea quercina* (L.) Pers., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill.
- Сем. Hydangiaceae: *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke.
- Сем. Cortinariaceae: *C. acutus* (Pers.) Fr., *C. obtusobrunneus* Rob. Henry, *C. caninus* (Fr.) Fr., *C. decipiens* (Pers.) Fr., *C. traganus* (Fr.) Fr., *C. triumphans* Fr.
- Сем. Entolomataceae: *Clitopilus prunulus* (Scop.) P. Kumm., *Entoloma cacabus* (Kuhn.) Noordel-Betula, *E. clypeatum* (L.) P. Kumm., *E. hebes* (Romagn.) Trimbach, *E. politum* (Pers.) Donk, *E. sericatum* (Britzelm.) Sacc., *E. sordidulum* (Kühner & Romagn.) P.D. Orton., *E. minutum* (P. Karst.) Noordel.
- Сем. Hygrophoraceae: *Ampulloclitocybe clavipes* (Pers.) Redhead, *Hygrophorus eburneus* (Bull.) Fr.
- Сем. Hymenogastraceae: *Galerina vittiformis* (Fr.) Singer, *Hebeloma album* Peck, *H. cylindrosporum* Romagn., *H. pallidoluctuosum* Gröger & Zschiesch., *H. mesophaeum* (Pers.) Quél., *H. radicosum* (Bull.) Ricken, *H. sordescens* Vesterh., *H. laterinum* (Batsch) Vesterh.
- Сем. Inocybaceae: *Crepidotus mollis* (Schaeff.) Staude, *Inocybe geophylla* (Bull.) P. Kumm., *I. cincinnata* (Fr.) Quél., *I. hystris* (Fr.) P. Karst., *I. erubescens* (A. Blytt) Matheny & Esteve-Rav., *Pseudosperma rimosum* (Bull.) Matheny & Esteve-Rav.
- Сем. Lyophyllaceae: *Calocybe carnea* (Bull.) Donk, *C. georgii* var. *gambosa* (Fr.) Kalamees, *Lyophyllum decastes* (Fr.) Singer.
- Сем. Marasmiaceae: *Baeospora myosura* (Fr.) Singer, *Macrocystidia cucumis* (Pers.) Joss., *Marasmius bulliardii* Quél., *M. epiphyllus* (Pers.:Fr.), *M. oreades* (Bolton) Fr., *M. rotula* (Scop.) Fr., *M. torquescens* Quél., *Crinipellis scabella* (Alb. & Schwein.) Murrill, *Atheniella flavoalba* (Fr.) Redhead (*Mycena flavoalba*).
- Сем. Mycenaceae: *Hemimycena lactea* (Pers.) Singer, *H. hirsuta* (Tode) Singer, *Mycena acicula* (Schaeff.) P. Kumm., *M. pura* (Pers.) P. Kumm., *M. polygramma* (Bull.) Gray, *M. rosella* (Fr.) P. Kumm., *M. galericulata* (Scop.) Gray, *M. aetites* (Fr.) Quél., *M. fagetorum* (Fr.) Gillet, *M. flavescens* Velen, *M. epipterygia* (Scop.) Gray, *M. sanguinolenta* (Alb. & Schwein.) P. Kumm., *M. septentrionalis* Maas Geest., *M. haematopus* (Pers.) P. Kumm., *M. metata* (Secr. Ex Fr.) P. Kumm., *M. mirata* (Peck) Sacc., *M. smithiana* Kühner, *M. capillaries* (Schum.) Fr., *M. leptcephala* (Pers.) Gillet, *M. vitilis* (Fr.) Quél., *M. galopus* (Pers.) P. Kumm., *M. cinerella* (P. Karst.) P. Karst., *M. laevigata* Gillet, *M. zepherus* (Fr.) P. Kumm., *Mycopan scabripes* (Murrill) Redhead, *Panellus mitis* (Pers.) Singer.
- Сем. Omphalotaceae: *Gymnopus hariolorum* (Bull.) Antonín, *G. dryophilus* (Bull.) Murril, *G. peronatus* (Bolton) Gray, *G. oreadoides* (Pass.) Antonín & Noordel., *Rhodocollybia butyracea* (Bull.) Lennox, *Marasmiellus ramealis* (Bull.) Singer, *M. vaillantii* (Pers.) Singer, *Mycetinis scorodonius* (Fr.) A.W. Wilson & Desjardin, *M. alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin, *M. querceus* (Britzelm.) Antonín & Noordel. ,
- Сем. Physalacriaceae: *Armillaria gallica* Marxm. & Romagn, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Hymenopellis radicata* (Relhan) R.H. Petersen (*Xerula radicata*), *Rhizomarasmius setosus* (Sowerby) Antonín & A. Urb., *Strobilurus stephanocystis* (Kühner & Romagn. ex Hora) Singer.
- Сем. Pleurotaceae: *Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Rolland.
- Сем. Pluteaceae: *Pluteus cervinus* (Schaeff.) P. Kumm., *P. salicinus* (Pers.) P. Kumm.
- Сем. Porotheleaceae: *Phloeomana alba* (Bres.) Redhead (*Mycena alba*).
- Сем. Psathyrellaceae: *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire, *P. piluliformis* (Bull.) P.D. Orton, *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange, *C. micaceus* (Bull.) Vilgalys, *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) Redhead, *Lacrymaria lacrymabunda* (Bull.) Pat., *Parasola conopilea* (Fr.) Örstadius & E. Larss., *P. plicatilis* (Curtis) Redhead,
- Сем. Schizophyllaceae: *Schizophyllum commune* Fr.
- Сем. Strophariaceae: *Pholiota aurivella* (Batsch) P. Kumm. *Ph. squarrosa* (Vahl) P. Kumm., *Stropharia aeruginosa* (Curtis) Quél., *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm., *Kuehneromyces mutabilis* (Schaeff.) Singer & A.H. Sm., *Hypholoma lateritium* (Schaeff.) P. Kumm.
- Сем. Tricholomataceae: *Leucocortinarius bulbiger* (Alb. & Schwein.) Singer, *Lepista personata* (Fr.) Cooke, *L. nuda* (Bull.) Cooke, *Lepista sordida* (Schumach.) Singer, *Paralepista flaccida* (Sowerby) Vizzini, *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm., *T. fulvum* (DC) Bigeard & H. Guill., *T. sculpturatum* (Fr.) Quél., *T. sulphureum* (Bull.) P. Kumm., *T.*

- stiparophyllum (N. Lund) P. Karst., *Clitocybe albofragrans* (Harmaja) Kuiper, *C. fragrans* (With.) P. Kumm., *C. nebularis* (Batsch) P. Kumm., *C. rivulosa* (Pers.) P. Kumm., *C. metachroa* (Fr.) P. Kumm., *C. vibecina* (Fr.) Quél., *Collybia macilentata* (Fr.) Gillet, *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja.
- Сем. Tubariaceae: *Tubaria confragosa* (Fr.) Harmaja, *T. conspersa* (Pers.) Fayod, *T. furfuracea* (Pers.) Gillet).
 - Сем. Russulaceae: *Lactarius aurantiacus* (Pers.) Gray, *L. blennius* (Fr.) Fr., *L. circellatus* Fr., *L. hortensis* Velen., *L. fulvissimus* Romagn., *L. pallidus* Pers., *L. turpis* (Weinm.) Fr., *L. trivialis* (Fr.) Fr., *L. pubescens* Fr., *L. pyrogalus* (Bull.) Fr., *L. subdulcis* (Pers.) Gray, *L. subumbonatus* Lindgr., *L. quietus* (Fr.) Fr., *L. vellereus* (Fr.) Fr., *L. torminosus* (Schaeff.) Gray, *Russula aeruginea* Lindbl. ex Fr., *R. adusta* (Pers.) Fr. (*R. nigricans*), *R. betularum* Hora, *R. cyanoxantha* (Schaeff.) Fr., *R. exalbicans* (Pers.) Melzer & Zvára, *R. graveolens* Romell, *R. ionochlora* Romagn., *R. claroflava* Grove, *R. elaeodes* (Bres.) Bon., *R. fellea* (Fr.) Fr. *R. foetens* Pers., *R. lilacea* Quél., *R. nauseosa* (Pers.) Fr., *R. nobilis* Velen., *R. parazurea* Jul. Schäff., *R. versatilis* Romagn., *R. virescens* (Schaeff.) Fr. *R. viscida* Kudrna, *R. pectinatoides* Peck., *R. solaris* Ferd. & Winge.
 - Сем. Boletaceae: *Chalciporus piperatus* (Bull.) Bataille, *Suillellus luridus* (Schaeff.) Murrill, *Xerocomellus porosporus* (Imler ex Watling) Šutara, *X. chrysenderon* (Bull.) Šutara, *Hortiboletus rubellus* (Krombh.) Simonni et. al., *Leccinellum griseum* (Quél.) Bresinsky & Manfr. Binder, *Leccinum scabrum* (Bull.) Gray, *L. variicolor* Watling.
 - Сем. Paxillaceae: *Paxillus involutus* (Batsch) Fr., *P. rubicundulus* P. D. Orton.
 - Сем. Sclerodermataceae: *Scleroderma verrucosum* (Bull.) Pers.
 - Сем. Suillaceae: *Suillus grevillei* (Klotzsch) Singe, *S. luteus* (L.) Roussel.
 - Сем. Geastraceae: *Geastrum triplex* Jungh.
 - Сем. Polyporaceae: *Cerioporus squamosus* (Huds.) Quél., *Trametes versicolor* (L.) Lloyd.
 - Ascomycota (7 видов):
 - Сем. Xylariaceae: *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev.
 - Сем. Pezizaceae: *Peziza badia* Pers.
 - Сем. Helvellaceae: *Helvella crispa* (Scop.) Fr.
 - Сем. Pyronemataceae: *Otidea alutacea* (Pers.) Masee, *Humaria hemisphaerica* (F. H. Wigg.) Fuckel.
 - Сем. Leoticeae: *Leotia lubrica* (Scop.) Pers.
 - Сем. Nectriaceae: *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.

Список литературы:

1. Володина А. А., Амеличкина И. С. Агарикоидные и гастероидные базидиомицеты ботанического сада РГУ им. И. Канта / Теоретические и прикладные аспекты экологии и биологии. Калининград, Изд-во РГУ им. И. Канта, 2008. – С. 10–20.

СУБСТРАТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ КСИЛОБИОНТНЫХ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ

Большаков С.Ю.

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

Неморальные леса Европейской России, составляющие зоны широколиственных лесов и лесостепи (Исаченко, 2001), в значительной степени фрагментированы и занимают только 19% от общей площади этого региона (Барталев и др., 2004). Это малоизученная в микологическом отношении территория, долгое время подвергающаяся интенсивному развитию сельского хозяйства. Крайне актуальным является задача изучения комплексов грибов, развивающихся в условиях сильно фрагментированных и антропогенно нагруженных лесов. Одним из самых крупных сохранившихся лесных массивов в этой зоне является Мокшанско-Цнинский, протянувшийся от г. Тамбов до г. Саров более чем на 300 км. Примерно 130 км этого массива расположены в западной части Республики Мордовия, и занимают здесь площадь 3.6 тыс. км².

Основные типы растительности данной территории – неморально-травяные березняки и осинники, липняки с клёном, сложные сосняки с липой. Бореальные кустарничково-зеленомошные хвойные леса занимают значительно меньшие площади. Примерно в бассейне р. Выша проходит южная граница распространения ели. Пойменные участки занимают черноольшаники и дубняки.

Микологическое изучение данной территории проводилось только в Мордовском заповеднике (Большаков, Змитрович, 2014), остальная часть лесного массива оставалась не изученной до начала наших исследований. Полевые исследования были сосредоточены на территории Мордовского заповедника, а также в более 40 локалитетах в Атюрьевском, Zubovo-Полянском, Темниковском и Теньгушевском районах и ЗАТО г. Саров. В пределах каждого конкретного локалитета обследовались как минимум одна единица субстрата (стволы, ветки и пни) для каждого из представленных в местообитании древесных пород. Для оценки стадий разложения древесины использовали общепринятые шкалы (Renvall, 1995; Химич, Шорохова, 2018).

В результате для обследуемого лесного массива на западе Мордовии было выявлено 336 деревообитающих видов кортициоидных и полипороидных грибов.

Из 147 видов (43.75% от всего видового богатства), развивающихся на древесине хвойных пород, 83 вида (24.70%) отмечены только на ней, из них 46 видов являются эвритрофами и отмечены на древесине как *Picea abies* (L.) H. Karst., так и *Pinus sylvestris* L.

Из 253 видов (75.30%), развивающихся на древесине лиственных пород, 189 вид (56.25%) отмечены исклю-

чительно на ней. Доля эвритрофов, способных развиваться на древесине двух и более родов лиственных пород составляет 146 видов. Среди таких видов наиболее широким спектром выявленных субстратов характеризуются *Steccherinum nitidum* (Pers.) Vesterh. – 10 родов древесных растений, *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev & Singer и *Fomes fomentarius* (L.) Fr. – 9, *Irpex lacteus* (Fr.) Fr., *Lyomyces crustosus* (Pers.) P. Karst., *Exidia nigricans* (With.) P. Roberts, *Steccherinum ochraceum* (Pers.) Gray и *Stereum subtomentosum* Pouzar – 8.

64 вида (19.05%) являются пантотрофами (Волобуев, 2015) и развиваются на широком спектре как лиственных, так и хвойных пород.

Патогенная активность достоверно выявлена для 35 видов, найденных на стволах и ветках живых деревьев, ещё 93 видов выявлены на сухостойных стволах и сухих ветках в кронах живых деревьев.

Наибольшее число видов отмечено на древесине *Betula* spp. (*B. pendula* Roth, *B. pubescens* Ehrh.) – 122 (36.30% от всего видового богатства). Ядро этого субстратного комплекса составляют 13 видов, представленных более 2% всех находок с этого субстрата (в порядке уменьшения обилия): *Fomes fomentarius*, *Trichaptum biforme* (Fr.) Ryvardeen, *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai, *Daedaleopsis tricolor*, *Stereum subtomentosum*, *Cerrena unicolor* (Bull.) Murrill, *Phlebia tremellosa* (Schrad.) Nakasone & Burds., *Trametes pubescens* (Schumacher) Pilát, *Xylodon flaviporus* (Berk. & M.A. Curtis ex Cooke) Riebesehl & E. Langer, *Schizophyllum commune* Fr., *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers., *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. Стенотрофных видов, развивающихся только на древесине *Betula*, выявлено всего 11. Распределение видов, отмеченных на древесине берёзы в различных стадиях её разложения, следующее: живые деревья – 8, I – 30, II – 46, III – 55, IV – 18, V – 2. Основными патогенами живых берёз являются *Aurantiporus fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) H. Jahn ex Ryvardeen и *Phellinus nigricans* (Fr.) P. Karst. Процесс разложения (стадия I) начинают преимущественно *Trichaptum biforme* и *Fomes fomentarius*. На стадиях II и III разложения максимальное участие принимают соответственно *Fomes fomentarius*, *Trichaptum biforme*, *Fomitopsis pinicola* и *Stereum subtomentosum*, *Fomes fomentarius*, *Trichaptum biforme* и др. Однако уже на стадиях IV и V эти виды не отмечены.

На древесине *Pinus sylvestris* отмечено 118 видов (35.12%). Ядро комплекса составляют 12 видов, представленных более 2% всех находок (в порядке уменьшения обилия): *Trichaptum fuscoviolaceum* (Ehrenb.) Ryvardeen, *Antrodia sinuosa* (Fr.) P. Karst., *Antrodia xantha* (Fr.) Ryvardeen, *Fomitopsis pinicola*, *Porodaedalea pini* (Brot.) Murrill, *Xenasmataella vaga* (Fr.) Stalpers, *Leptoporus mollis* (Pers.) Quél., *Skeletocutis amorpha* (Fr.) Kotl. & Pouzar, *Postia leucomallella* (Murrill) Jülich, *Botryobasidium subcoronatum* (Höhn. & Litsch.) Donk, *Vesiculomyces citrinus* (Pers.) E. Hagstr., *Rhodonina placenta* (Fr.) Niemelä, K.H. Larss. & Schigel. Доля стенотрофов на сосне гораздо больше и составляет 40 видов. Распределение видов, отмеченных на древесине сосны в различных стадиях её разложения, следующее: живые деревья – 4, I – 16, II – 37, III – 43, IV – 15, V – 1. Основным патогеном сосны является *Porodaedalea pini*. Смена основных разрушителей древесины сосны выглядит следующим обра-

зом: на стадии I – *Trichaptum fuscoviolaceum*, *Fomitopsis pinicola*, *Antrodia xantha* и др.; на стадии II – *Trichaptum fuscoviolaceum*, *Fomitopsis pinicola*, *Antrodia sinuosa*, *Postia leucomallella* и др.; на стадии III и IV – *Xylodon brevisetus* (P. Karst.) Hjortstam & Ryvardeen, *Vesiculomyces citrinus* и *Xenasmataella vaga* и др.

На древесине *Populus tremula* L. отмечено 114 видов (33.93% от всего видового богатства). Наиболее часто (более 2% всех находок) встречаются 11 видов: *Phellinus tremulae* (Bondartsev) Bondartsev & P.N. Borisov, *Bjerkandera adusta*, *Trametes ochracea* (Pers.) Gilb. & Ryvardeen, *Oxyporus corticola* (Fr.) Ryvardeen, *Aurantiporus fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) H. Jahn ex Ryvardeen, *Trametella trogii* (Berk.) Domański, *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., *Punctularia strigosozonata* (Schwein.) P.H.B. Talbot, *Metuloidea murashkinskyi* (Burt) Miettinen & Spirin, *Trametes gibbosa* (Pers.) Fr., *Inocutis rheades* (Pers.) Fiasson & Niemelä. Стенотрофов на древесине осины отмечено 20 видов. Распределение видов, отмеченных на древесине осины в различных стадиях её разложения, следующее: живые деревья – 4, I – 13, II – 33, III – 34, IV – 7, V – 2. Максимальной частотой встречаемости на древесине живых деревьев, сухостоя и свежего валежа (стадии 0–I) отличается *Phellinus tremulae*, также на стадии I велика роль *Aurantiporus fissilis*, *Trametes gibbosa*, *Punctularia strigosozonata*, *Bjerkandera adusta* и др.; на стадиях II–III – *Trametes ochracea*, *Punctularia strigosozonata*, *Peniophora rufa* (Fr.) Boidin и др.

На древесине *Quercus robur* L. отмечено 85 видов (22.97% от всего видового богатства), на *Tilia cordata* Mill. – 77, *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. – 76, *Picea abies* – 76.

На остальных родах древесных пород отмечено менее 50 видов: на *Acer platanoides* L. – 49, на *Salix* spp. – 44, на *Ulmus* spp. – 41, на *Corylus avellana* L. – 35, на *Prunus padus* L. – 19, на *Sorbus aucuparia* L. – 6, *Frangula alnus* Mill. – 5, *Euonymus verrucosus* Scop. – 4 вида.

Для оценки бета-разнообразия основных субстратных комплексов видов было проведено сравнение их видового состава и кластеризация с использованием показателей индекса сходства Сёренсена, используя данные о присутствии и отсутствии видов. Сравнение проводилось для 10 групп, представленных более 40 видами и связанных с древесиной *Picea*, *Pinus*, *Acer*, *Alnus*, *Betula*, *Populus*, *Quercus*, *Salix*, *Tilia* и *Ulmus*. Наибольшее число общих видов имеют *Betula* и *Populus* (60 видов), *Populus* и *Tilia* (49), *Betula* и *Alnus* (49), *Picea* и *Pinus* (46), *Betula* и *Tilia* (45). Кластерный анализ в первую очередь показывает чёткую обособленность группы хвойных видов – видов, связанных с *Pinus* и *Picea*; это типичная и ожидаемая картина. «Лиственная» группа имеет более сложную структуру. Исходя из данных кластеризации, в первую очередь можно выделить группу видов, связанных с *Betula*, *Populus* и *Tilia*. В другую группу видов выделяются комплексы деревообитающих грибов *Alnus* и *Quercus*, формирующих на исследуемой территории пойменные леса.

Список литературы

1. Барталев С.А., Ершов Д.В., Исаев А.С., и др. Карта лесов Российской Федерации, окрашенная по преобладающим группам пород деревьев и сомкнутости древесного полога. Масштаб 1:14000000. М., 2004.

2. Большаков С.Ю., Змитрович И.В. Афиллофороидные грибы Мордовского заповедника // Микология и фитопатология. 2014. Т. 48, № 5. С. 283–298.
3. Волобуев С.В. Афиллофороидные грибы Орловской области: таксономический состав, распространение, экология. СПб.: Изд-во «Лань», 2015. 304 с.
4. Исаченко А.Г. Экологическая география России. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2001. 328 p.
5. Химич Ю.Р., Шорохова Е.В. Шкалы разложения крупных древесных остатков (КДО) и их использование в микологических исследованиях // Грибные сообщества лесных экосистем. Том 5 / отв. ред. В.Г. Стороженко, А.В. Руоколайнен, А.В. Кикеева. М.; Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2018. С. 136–140.
6. Renvall P. Community structure and dynamics of wood-rotting basidiomycetes on decomposing conifer trunks in northern Finland // *Karstenia*. 1995. Vol. 35, № 1. P. 1–51.

БАЗА ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ О НАХОДКАХ ГРИБОВ СЕВЕРА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Филиппова Н.В.

Югорский государственный университет, Ханты-Мансийск

История микологических исследований на севере Западной Сибири начата с изолированных исследований в начале XX века, однако более-менее организованные исследования на этой территории ведутся с его второй половины. В ходе этой истории, несколько десятков исследователей работало на территории, а общее число публикаций превышает 3 сотни. История микологических исследований в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре детально описана в статьях (Filipova et al., 2017a; 2017b). Материалы по изученности отдельных групп организмов также опубликованы в ряде монографий и региональных чеклистов (Магомедова, Ектова, 2006; Магомедова, Ектова, Рябицева, 2006; Мухин, 1993). Единого чеклиста о грибах региона или региональной фунги до сих пор не существует, а находки видов хранятся в разрозненных и часто труднодоступных публикациях.

В последние годы в регионе реализуется программа оцифровки и мобилизации данных о биоразнообразии, объединяя разрозненные источники с помощью единых стандартов хранения на общедоступных информационных порталах. В рамках этой инициативы нами проведена работа по оцифровке и мобилизации данных о грибах и грибоподобных организмах, ранее опубликованных в научной печати. В результате оцифровки была создана база данных находок видов, известных с территории, которая может рассматриваться как цифровой аналог аннотированного чеклиста.

Основа базы данных была создана в 2016 году используя Google Sheets (онлайн таблицы гугла) для синхронного заполнения данных несколькими пользователями (Филиппова, Большаков, 2017). При создании структуры полей и формата данных использовали стандарт Darwin Core. Данные о находках видов экстрагировались из публикаций и вносились в базу данных коллективным усилием соавторов. Первая версия базы данных была посвящена только одному региону – Югре с названием Fungal records database of Yugra, FReDY. Позднее география была расширена до еще одного северного региона – Ямало-Ненецкого автономного округа, и переименована в соответствии: Fungal records Database of the Northern West Siberia, FuNWS. База данных была опубликована в Глобальной информацион-

ной системе по биоразнообразию GBIF (Filipova et al., 2020).

В задачи проекта по созданию базы FuNWS входила оцифровка всех публикаций, содержащих находки грибов и грибоподобных организмов на севере Западной Сибири (в границах двух административных регионов). Библиография работ по этой территории включает более 350 источников, из них около 100 содержат описания находок видов. Около 80% находок видов собраны относительно недавно, с начала 21 века.

В результате таксономического анализа полученной базы данных выявлено около 2900 видов грибов и грибоподобных организмов, отмеченных на территории севера Западной Сибири. Они представляют следующую таксономическую структуру: 877 родов, 260 семейства, 81 порядок, 20 классов, 4 филы и два царства (Fungi, Protozoa). База данных на момент подачи тезисов (01.03.2020) насчитывает около 18 тысяч записей. Наиболее богаты видами классы: Agaricomycetes (48%) and Lecanoromycetes (33%). Самые богатые семейства (30% от общего числа видов) представлены Parmeliaceae (141 вид), Physciaceae (99), Russulaceae (97), Cortinariaceae (94), Tricholomataceae (84), Lecanoraceae (81), Cladoniaceae (80), Polyporaceae (80), Ramalinaceae (67), Hymenogastraceae (62 вида).

Географическая структура данных различается по регионам и районам. Около 70% всех находок представлено из Югры, 18% из ЯНАО. Остальные находки происходят из сопредельных регионов, поскольку каждая публикация вносилась целиком, при наличии в ней находок из других регионов. Изученность территории в Югре более равномерная, чем на севере региона. Здесь почти все районы представлены находками видов, однако 80% находок происходят из четырех районов (Ханты-Мансийский, Сургутский, Березовский и Советский). В ЯНАО только три района имеют находки видов грибов, при этом 81% происходят из одного Приуральского района и 23% – из Ямальского. Расположение районов исследований в регионе в целом разрозненное, без использования сети наблюдений. Однако большее число работ сосредоточено на природоохраненных территориях, а около половины находок в базе имеют отношение к территории тринадцати ООПТ.

В процессе оцифровки данных был использован следующий алгоритм, позволяющий структурировать и формализовать операции. Он может быть использован как шаблон для повторения оцифровки данных по другим группам организмов в регионе.

1. Формирование библиографического списка научных работ разного типа (статьи, монографии, диссертации, главы в книгах и др.), имеющих отношение к изучению грибов в регионе. При поиске мы опирались на знакомый нам список авторов, работающих на территории, которые лично подготовили списки своих работ и известные им другие источники по разным группам. Дополнительно происходил поиск по цитируемым источникам, региональным Красным Книгам, библиографическим работам, и основным журналам. Найденные источники вносились в библиографический менеджер (в нашем случае Zotero).
2. Поиск, сканирование и распознавание полных текстов работ и добавление их в Zotero. В результате была создана электронная библиотека, которая размещена на сайте проекта в открытом доступе.
3. Создание базы данных библиографических источников, которая будет служить для мониторинга процесса оцифровки. В этой базе данных, кроме основной библиографической информации, содержатся колонки о количестве находок видов (если имеются), дате и авторе их внесения в базу, общем описании источника данных (аннотированный список, региональная сводка, теоретическая работа, экологическое исследование, описание нового вида и пр.), качестве геопривязки, наличии даты наблюдения/сбора находок, наличии гербарных номеров находок. Такая база данных позволяет вести трек процесса оцифровки и качества получаемых в итоге данных.
4. Создание самой базы данных находок на основе Google Sheets (или Excel). Формирование структуры базы данных (полей) происходило в соответствии с форматом Darwin Core и типом поступающих данных. Формат данных также определялся DwC и договоренностью между авторами базы данных.
5. Внесение находок видов в базу. Мы не использовали фильтр на качество данных и вносили все упоминания, будь то указание конкретной находки с координатой, или просто сообщение о нахождении вида в регионе. Далее опишем алгоритм заполнения каждого поля базы данных:
 - `bibliographicCitation` – указание на ссылку источника данных.
 - `originalNameUsage` – исходное название таксона, как оно сообщалось в публикации. Для коррекции грамматических ошибок после заполнения этого поля, оно проверялось через GBIF Species matching tool (www.gbif.org/tools/species-lookup).
 - `identificationQualifier` – для указаний на сомнительные определения, если об этом сообщается в публикации (*cf.*, *aff.*).
 - `habitat` – в это поле вносились информация об особенностях местообитания, типе растительности и субстрате. Для более детального анализа этой информации, имеет смысл вносить ее в разные поля и вводить классификаторы, чего не было сделано на настоящем этапе.

- `verbatimLocality` – поле для внесения географического описания уровнем ниже района.
- `Locality` – перевод вышеназванного поля на английский язык, часто в сокращенном виде.
- `year` – год, в случае если публикация не содержала информации о дате находки, в это поле вносился год публикации.
- `month` – месяц, если публикация содержит дату находки.
- `day` – день, если публикация содержит дату находки.
- `fieldNumber` – полевой номер, или номер в коллекции, если указан в публикации.
- `basisOfRecord` – основание находки, имеет значение `HumanObservation` для сообщения находок без номеров гербария, `PreservedSpecimen` – для находок с сообщением номеров.
- `countryCode` – код страны, RU.
- `stateProvince` – административная единица уровнем ниже страны (регион, республика, область, край, или округ). Названия указывались на латинице, как в Google maps.
- `county` – административная единица уровнем ниже `stateProvince` (район). Названия указывались латиницей, как в Google maps.
- `decimalLatitude` – широта. В зависимости от качества геопривязки в источнике, она дополнялась в момент внесения ее в базу. Для видов, где указывалось географическое описание места сбора, координаты извлекались с использованием Google maps. Для сообщений о находках в регионе бралась центральная координата региона (из википедии) с радиусом неточности, покрывающем его границы. Все координаты приводились к общему формату ГГ.ГГГГГ.
- `decimalLongitude` – долгота. Детали см. выше.
- `coordinateUncertaintyInMeters` – радиус неточности, т.е. расстояние в пределы которого может попасть координата от указанной точки, определялось следующим образом: 1) указание конкретных координат находок видов или площадок соответствует неточности GPS (в среднем 3-10 м), 2) указание координат или географического описания места работы соответствует неточности от 500 м до 5 км и зависит от длины маршрутов, 3) сообщение о нахождении вида в регионе или на территории ООПТ дает неточность, равную радиусу круга, в который попадает вся территория (в FuNWS до 100 км).
- `georeferenceSources` – источник геопривязки, в нашем случае Google или Yandex maps.
- `rank` – таксономический ранг находки, заполняется автоматически с помощью GBIF Species matching tool на последней стадии заполнения базы данных.
- `kingdom` – царство, заполняется автоматически с помощью GBIF Species matching tool на последней стадии заполнения базы данных. То же самое относится к остальным шести полям. При заполнении этих полей из таксономической системы GBIF автоматически происходит синонимизация таксонов. Эти поля в дальнейшем использовались для таксономического анализа данных, загруженных в FuNWS.
- `phylum`
- `class`

- order
- family
- genus
- species

6. На последнем этапе производится верификация данных, т.е. поиск возможных ошибок в сформированном объеме базы данных. Для этого подходят как простые методы фильтров и сортировки, так GIS и специальные инструменты GBIF.
7. Обновление набора данных и метаданных (его описания) в GBIF по мере появления новых публикаций или других правок в базе данных.
8. По мере роста базы данных возможна публикация «статей о данных» для формализации выполненной работы в научной печати. Подробнее см. в статье: <http://gbif.ru/dataraper>

База данных FuNWS не является законченным продуктом и будет пополняться по мере выхода новых публикаций. Также будет продолжена оцифровка уже опубликованных работ, которые не были найдены или показались нам второстепенными на первом этапе формирования источников. Обновленные версии базы будут регулярно загружаться в GBIF.

Список литературы

1. Filippova, N.V., Arefyev, S.P., Bulyonkova, T.M., et al. 2017a. The history of mycological studies in Khanty-Mansi autonomous okrug: 1) the period of isolated studies, lignicolous basidiomycetes and phytopathological studies // Environmental Dynamics and Global Climate Change, 8, P. 18–28. <https://doi.org/10.17816/edgcc8218-28>
2. Filippova N.V., Arefyev S.P., Bulyonkova T.M., et al. 2017b. The history of mycological studies in Khanty-Mansi autonomous okrug: 2) studies of Macromycetes, Lichens and Mухomycetes, state of mycological collections and fungal records database // Environmental Dynamics and Global Climate Change, 8, P. 29–45. <https://doi.org/10.17816/edgcc8229-45>.
3. Магомедова М.А., Эктова С.Н. 2006. Лишайники // Полуостров Ямал: растительный покров. 117–147 с.
4. Магомедова М.А., Эктова С.Н., Рябицева Н.Ю. 2006. Лишайники // Растительный покров и растительные ресурсы Полярного Урала. 257–327 с.
5. Мухин В.А. 1993. Биота ксилотрофных базидиомицетов Западно-Сибирской равнины. Екатеринбург: УИФ «Наука». 232 с.
6. Филиппова Н.В., Большаков С.Ю. 2017. История микологических исследований и региональная база данных регистраций грибов в Ханты-Мансийском Автономном Округе – Югре Сыктывкар: Издательство ИБ Коми НЦ УрО РАН. 126–129 с.
7. Filippova N., Bulyonkova T. 2018. Fungal records database of Khanty-Mansi Autonomous Okrug – Yugra // BIO Web of Conferences. (11). С. 00015.
8. Filippova N, Arefyev S, Bulyonkova T, et al. 2020. Fungal records database of the Northern West Siberia (Russia). Version 1.6. Yugra State University Biological Collection (YSU BC). Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/hfe3l> accessed via GBIF.org on 2020-03-02.

НОВЫЙ ШТАММ *ACIDOMYCES ACIDOPHILUS* ИЗ АЦИДОФИЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК ПЕЩЕРЫ ШЕКИ-ХЬЕХ (РОССИЯ, ЧЕЧЕНСКАЯ РЕСПУБЛИКА)

Галимзянова Н.Ф.¹, Кузьмина Л.Ю.¹, Гильванова Е.А.¹, Рябова А.С.,
Мелентьев А.И.¹, Червяцова О.Я.²

¹ Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН;

² Государственный заповедник «Шульган-Таш», Башкирия

Пещеры представляют собой природные, как правило, экстремальные экосистемы, где в условиях ограниченности ресурсов формируются специфические сообщества микроорганизмов, представляющие собой уникальные объекты для изучения их взаимодействия в составе поливидовых биопленок.

Пещера Шеки-Хьех находится в нижнем течении реки Шаро-Аргун (Чеченская республика) и является единственной в России полостью активного серноводородного спелеогенеза с источником сероводородных вод (Потапов, др., 2017). Микробные кислотные биопленки - сноттиты (*snottites*) формируются на потолке и стенах пещеры на участках интенсивной дегазации аноксических грунтовых сероводородных вод, их развитие уменьшается по мере удаления от сероводородного источника. Сноттиты представляют собой красно-коричневый слой вязкой слизи, тяжами стекающий

вниз, на их кончиках формируются капли жидкости, имеющей кислую реакцию (рН 1,8). В составе сноттитов были обнаружены ацидофильные сульфатокисляющие бактерии рода *Acidithiobacillus* численностью $7 \cdot 10^7$ КОЕ/г, актинобактерии - 160 КОЕ/г и темноокрашенные микромицеты - $2 \cdot 10^4$ КОЕ/г (Кузьмина и др., 2019). Идентифицировать по культурально-морфологическим признакам доминирующий темноокрашенный изолят микроскопического гриба не удалось. Для установления таксономического положения изолята применяли метод баркодинга ДНК, включающий секвенирование транскрибируемых спейсерных участков ITS1 и ITS2. Результаты генетического анализа показали, что с высокой степенью достоверности (99,26%) выделенный гриб относится к виду *Acidomyces acidophilus* (Sidler & J.W.Carmich.) Selbmann, de Hooge & De Leo. Представители этого вида ранее были обнаружены в различных

экстремальных экотопах, характеризующихся крайне низкими значениями pH (1–3) и высоким содержанием серы, как правило, связанных с добычей полезных ископаемых (Tiquia-Arashiro, Grube, 2019).

Таким образом, в России впервые обнаружен представитель вида *Acidomyces acidophilus* в составе сноттитов пещеры сернокислотного спелеогенеза Шеки-Хъех.

Список литературы

1. Потапов С.С., Червяцова О.Я., Паршина Н.В., Ракин В.И., Леонова Л.В., Самохин Г.В. с соавт. К минералогии пещеры Шеки-Хъех (Шатойский район,

Чеченская Республика) // Минералогия техногенеза. 2017. С. 17–32.

2. Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Ясаков Т.Р., Гуватова З.Г., Кудрявцева А.В. с соавт. Ацидофильные микробные сообщества пещеры Шеки-Къех (Чеченская республика) // Экобиотех. 2019. Т. 2, № 4. С. 520–524. DOI:10.31163/2618-964X-2019-2-4-520-524
3. Sonia M. Tiquia-Arashiro, Martin Grube. Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance. Springer Nature Switzerland AG. 2019. P.626.

ВИДЫ РОДА *SUILLUS* GRAY (*SUILLACEAE*) В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ

Ивойлов А.В.

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

Род Маслёнок (*Suillus* Gray) – самый многочисленный род семейства *Suillaceae* Besl & Bresinsky порядка *Boletales* E.-J. Gilbert, насчитывающий от 54 (Kirk et al., 2008) до 70–80 видов (Kretzer et al., 1996). До 1997 г. он входил в семейство *Boletaceae* (Besl et al., 1997). По состоянию на март 2020 года в базе данных Index Fungorum зафиксировано 108 валидных таксонов маслят, 10 из которых были включены в перечень видов в 2015–2019 гг. (Index Fungorum, 2020). В России их числится около 20 видов (Сазонова, 2009; Паламарчук, 2015). Этот род объединяет группу агарикоидных базидиомицетов боленоидного типа, плодовые тела которых состоят из ножки и шляпки с трубчатым гименофором. Шляпка выпуклая до распростертой, клейкая, слизистая, реже сухая, гладкая или волокнистая, большей частью с легко снимающейся кожицей. Трубчатый слой приросший или нисходящий на ножку, часто легко отделяющийся от мякоти шляпки, желтый до оливково-коричневого, поры различной формы и размера. У молодых экземпляров гименофор нередко выделяет капли жидкости. Ножка цилиндрическая, сплошная, с кольцом или без кольца, с мелкими железистыми бородавочками или без них. Споровый порошок светло-коричневый, желто-коричневый, оливково-коричневый, оливковый до темно-коричневого (Watling et al., 2005).

Большинство видов рода *Suillus* распространены в хвойных и смешанных лесах Северного полушария, но встречаются и в других регионах мира – Африке, Австралии, Новой Зеландии, Тайланде, Малазии (Kirk et al., 2008). Они образуют эктомикоризу с хвойными деревьями, в основном с двуххвойными и пятихвойными видами сосны (*Pinus* spp.) и видами лиственницы (*Larix* spp.). В Республике Мордовия к настоящему времени известны 7 видов рода *Suillus*, из них 4 аборигенных и 3 адвентивных. Приводим их список с краткой аннотацией.

Микоризообразователи с *Pinus sylvestris* L. (аборигенные виды)

Suillus bovinus (Pers.) Roussel – козяк, или масленок бычий. В Мордовии встречается с июля по октябрь на

кислых песчаных почвах во влажных, преимущественно в молодых сосновых и смешанных с сосной лесах. Трубчатый слой низбегающий, трудноотделимый от мякоти шляпки, очень похож на губку, грязно-желтый, потом коричнево-оливковый. От прикосновения к нему остаются коричневые пятна. Пores крупные, неровные, угловатые, часто с надорванными краями, за что гриб и получил другое название «*решиетник*». Мякоть в шляпке бледно-желтая, позднее коричневая, на изломе слабо розовеющая, характерно упругая, жестковатая, с фруктовым запахом и кисловатым вкусом. Во влажные годы попадает большими группами, в сухие – достаточно редок. Отмечен в Березниковском (LE 314978) и Кочкуровском р-нах, на территории Мордовского государственного природного заповедника им. Г.П. Смиловича (МГПЗ) (Кузнецов, 1960; Частухин, 2011).

S. granulatus (L.) Roussel – масленок зернистый, или летний. Попадает практически повсеместно в разреженных сосновых лесах с молодым сосновым подлеском, на опушках леса, вдоль дорог, особенно обильно – в молодых сосновых лесах и лесопосадках. Встречается часто и обильно, как правило большими группами, с конца мая по сентябрь (в 2012 г. автор нашел два плодовых тела 7.05.). В урожайные годы бывает 2–3 слоя плодоношения. Отмечен во всех районах Мордовии, в том числе и в МГПЗ (Кузнецов, 1960). В республике это один из наиболее массовых видов грибов, собираемых населением.

S. luteus (L.) Roussel – масленок желтый, или настоящий либо поздний. Растет на хорошо освещаемых участках в разреженных сосновых лесах с сосновым подлеском, в молодых сосновых посадках. Первые плодовые тела появляются в конце мая – в начале июня. Плодоносит до заморозков несколькими слоями, которых в зависимости от погоды может быть от 3 до 5. Особенно обильно плодоносит во второй половине лета. Встречается, как правило, большими

группами. Растет на земле, предпочитает кислые песчаные почвы. В Мордовии отмечается повсеместно, в том числе в МГПЗ (Кузнецов, 1960; Частухин, 2011). Имеет сходство с масленком зернистым (*S. granulatus*), но отличается от него наличием пленчатого кольца на ножке.

S. variegatus (Sw.) Kuntze – масленок желто-бурый, или пестрый. Попадает с июля по сентябрь, достаточно часто, но не обильно в сосновых и смешанных с сосной лесах, по лесным опушкам и полянам, вдоль дорог. Растет на земле, обычно одиночно или небольшими группами на любых почвах, как на влажных, так и сухих, но предпочитает из них кислые песчаные. Своей бархатистой шляпкой гриб похож на моховики, из-за чего его иногда именуют моховиком желто-бурый либо моховиком песчаным. Мякоть не очень плотная, желтоватая, на изломе и при повреждении слегка синеющая, с приятным слабым запахом и неострым кислотным вкусом. В Мордовии достоверно отмечен в Березниковском (LE 314979) и Кочкуровском р-нах, в МГПЗ (Кузнецов, 1960; Частухин, 2011).

Микоризообразователи с *Larix sibirica* Ledeb. (адвентивные виды)

S. grevillei (Klotzsch) Singer – масленок лиственничный. Растет на земле в молодых лесопосадках с лиственницей сибирской, которая не является видом природной флоры Мордовии, всегда в радиусе корневой системы деревьев, на разнообразных по гранулометрическому составу почвах – от песчаных до глинистых. Встречается с июля по сентябрь, одиночно или большими группами. Достоверно известен по находкам в Кочкуровском (HMNR 10137, 10143), Краснослободском, Чамзинском р-онах Мордовии, в ГО Саранск (территория ВВЦ, пос. Ялга; LE 314966).

S. tridentinus (Bres.) Singer – масленок рыже-красный, или тридентский. В Мордовии известен по единственной находке в 2011 г. (06 10) (пос. Ялга ГО Саранск, территория ВВЦ, на почве рядом с лиственничной аллеей, HMNR 10018) (Большаков и др., 2012). Включен в мониторинговый список грибов республики (Красная книга..., 2017).

S. viscidus (L.) Roussel – масленок серый. Известны два местонахождения: пос. Ялга ГО Саранск, территория

ВВЦ, на плодородной почве рядом с лиственничной аллеей (HMNR 10026, 10141, LE 314967, 314968) и около турбазы «Сура» в Кочкуровском р-не (HMNR 10142).

Список литературы

1. Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers A. J. Ainsworth and Bisby's. Dictionary of the Fungi. Tenth Edition. Wallingford : CAB International. 2008: 782.
2. Kretzer A.M., Li Y., Bruns T.D. Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: Phylogenetic and taxonomic implications. *Mycologia*. 1996; 88(5): 776–785. <https://doi.org/10/10/80/00275514/1996.12026715>
3. Besl H., Bresinsky A. *Chemosystematics of Suillaceae and Gomphidiaceae* (suborder *Suillineae*). *Plant Systematics and Evolution*. 1997; 206: 223–242.
4. Index Fungorum. URL : <http://www.indexfungorum.org> (дата обращения 16.02.2020).
5. Сазонова Н.А. Макромицеты Магаданской области. Магадан : СВНЦ ДВО РАН. 2009: 196.
6. Паламарчук М.А. Первое указание *Suillus acidus* var. *intermedius* (*Suillaceae*, *Boletales*) для Европы с Северного Урала. *Новости сист. низш. раст.* 2015; 49: 204–212. <https://doi.org/10.31111/nsnr/2015.49.204>
7. Watling R., Hills A.E. *Boletes and their allies* (revised and enlarged edition). In: *British Fungus Flora. Agarics and boleti*. Vol. 1. Royal Botanic Garden, Edinburgh. 2005: 173.
8. Кузнецов Н. И. Флора грибов, лишайников, мхов и сосудистых растений Мордовского заповедника // *Тр. Мордов. гос. заповедника им. П. Г. Смидовича*. Вып. 1. Саранск: Мордов. кн. изд-во. 1960: 71–128.
9. Частухин В. Я. Флора грибов Мордовского государственного заповедника // *Вестн. Мордов. ун-та. Сер. Биол. науки*. 2011; 4: 100–124.
10. Большаков С.Ю., Ивойлов А.В. О находках новых для микобиоты Мордовии видов макромицетов. *Изв. Самарского науч. центра РАН*. 2012; 14 (5): 127–131.
11. Красная книга Республики Мордовия. В 2 т. Т. 1 : Редкие виды растений и грибов. Изд. 2-е, перераб. и доп./ сост. Т.Б. Силаева. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та. 2017: 409.

МОНИТОРИНГ ОХРАНЯЕМЫХ ГРИБОВ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ

Ивойлов А.В.

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

Изучение макромицетов Республики Мордовия насчитывает более 80 лет. Его начало было положено исследованиями Н.И. Кузнецова в 1936–1939 гг. и сотрудницы БИНа Т.Л. Николаевой в 1937 г. на территории Мордовского государственного природного заповедника им. П.Г. Смидовича. Данные этих сборов были использованы при составлении списка видов флоры заповедника, который включал на тот момент 186 макромицетов, в т.ч. 65 афиллофороидных грибов

(Кузнецов, 1960). Они также вошли в отечественные монографии и определители (Бондарцев, 1953; Николаева, 1961; Бондарцева, 1998). Позднее, в 50-х гг. XX века, В.Я. Частухиным был составлен список макромицетов заповедника, который включал 197 таксонов, из них 62 афиллофороидных (Частухин, 2011).

Планомерное изучение микофлоры республики началось после издания Красной книги Республики Мордовия (2003). Ее выход стал стимулом для дальнейших

микологических изысканий в регионе. При проведении полевых работ предпочтение было отдано маршрутным методам исследований. Они проводились, главным образом, в лесных сообществах, реже – на лугах, пастбищах и рудеральных местообитаниях. Были выявлены новые для республики виды, проведен мониторинг и отмечены новые местонахождения для уже известных редких грибов, а также изменен статус редкости для некоторых из них. В настоящее время в Мордовии зафиксировано около 600 видов грибов (не считая лишенизированных) с крупными плодовыми телами, из них более 100 видов редкие не только для республики, но и для многих регионов Российской Федерации. Во 2-е издание Красной книги Республики Мордовия (2017) включены 59 видов грибов, в т. ч. 35 видов макромицетов (5 представителей сумчатых грибов – *Ascomycota* и 30 базидиальных – *Basidiomycota*) и 24 вида лишайников. Пять таксонов – *Saproamanita vittadinii* (Moretti) Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu, *Rubinoboletus rubinus* (W.G. Sm.) Pilát & Dermek, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. и *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray – входят в Красную книгу Российской Федерации (2008).

С 2007 г. ведется мониторинг состояния отдельных видов охраняемых грибов республики. Ниже приведены его данные.

1. *Saproamanita vittadinii* (Moretti) Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu (= *Amanita vittadinii* (Moretti) Vittad.). Вид впервые отмечен в Республике Мордовия в 2007 г. (26 07) в пос. Ялга ГО Саранск на почве вблизи хозяйственных построек жителей поселка (Ивойлов, 2012). На участке площадью 8–9 м² были найдены 4 плодовых тела, в 2008 г. (20 07) – 2, в 2009 г. (11 08), 2011 г. (16 09), 2012 г. (15 09) и 2013 г. (08 08) – по одному плодовому телу (HNMR 10011, 10121, 10156). В 2010, 2014 и 2015 гг. гриб не был обнаружен. В 2013 г. (04 09) найдено два плодовых тела в 200 м западнее первого местонахождения. В 2016 г. (03 08) отмечено третье местонахождение макромицета – в 450–500 м юго-западнее первого месторасположения (найден одно плодовое тело). После 2016 г. плодовые тела не наблюдались.

2. *Rubinoboletus rubinus* (W.G. Sm.) Pilát & Dermek. Известно одно местонахождение. Вид впервые отмечен в республике в 2012 г. (30 08) на окраине лесного массива с *Quercus robur* L., *Tillia cordata* Mill., *Acer platanoides* L. и с подлеском из *Euonymus verrucosa* Scop. и *Caragana arborescens* Lam. западнее пос. Ялга ГО Саранск (кв. 263 Саранского лесничества) среди лесной подстилки на почве (Ивойлов и др., 2015). Были найдены 3 плодовых тела (из них два сросшихся, LE 311889), в 2013 г. (04 09) – 5, в 2014 г. (15 09) – 1, в 2015 г. (29 08) – 4, в 2016 г. (15 08) – 13 (LE 314971, 314976), (02 09) – 3 экземпляра (LE 314972). В 2017 и 2018 гг. плодовые тела в этом локалитете не были отмечены. В 2019 г. в 2 срока были найдены 7 плодовых тел: (20 08) – 4 экземпляра, которые росли поодиночке на площади около 40 м², (29 08) – 3 экземпляра, росшие группой.

3. *Caloboletus radicans* (Pers.) Vizzini. Одно местонахождение. Вид впервые отмечен в 2015 г. (03 09) на окраине лесного массива западнее пос. Ялга ГО Саранск (кв. 263 Саранского лесничества) на почве среди лесной подстилки (Ивойлов, 2018). Было найдено одно плодовое тело (LE 314970). В 2016 г. (02 09) 9 плодовых

тел (LE 314981), в 2017 г. там же в два срока (12 09 и 28 09) на площади около 4 м² найдены 13 экз. (5 и 8 шт. соответственно). Мониторинг локалитета в 2018 г. был безрезультатным. В 2019 г. местонахождение гриба обследовалось неоднократно: 09 08 были найдены 2 старых экз., изъеденных личинками грибных мух, 20 08 на площади около 50 м² – 20 плодовых тел массой от 14 до 110 г, росшие группами по 3–5 шт., 29 08 – 11 экз.

4. *Hemileccinum impositum* (Fr.) Šutara. Локалитеты этого макромицета отмечены в Инсарском (1 местонахождение), Кочкуровском (3) и Рузаевском (1) районах республики, в окрестностях г. Саранск (2 местонахождения; HMNR 10080). В 2018 г. (18 08) было отмечено новое месторасположение данного вида на окраине лесного массива западнее пос. Ялга ГО Саранск (кв. 263 Саранского лесничества), на котором были найдены 2 плодовых тела. В 2019 г. (29 08) в процессе мониторинга на площади 1 м² были обнаружены 3 плодовых тела, (26 09) – 1 экз.

Мониторинг местонахождений этих редких макромицетов будет продолжен.

Список литературы

- Кузнецов Н.И. Флора грибов, лишайников, мхов и сосудистых растений Мордовского заповедника. Труды Мордовского государственного заповедника им П. Г. Сидовича. Вып. I. Саранск: Мордов. кн. изд-во. 1960: 71–128.
- Бондарцев А.С. Трутовые грибы Европейской части СССР и Кавказа. М. ; Л. : Изд-во АН СССР. 1953: 1106.
- Николаева Т. Л. Флора споровых растений СССР. Т. VI. Ежовиковые грибы. М. ; Л. : Изд-во АН СССР. 1964: 433.
- Бондарцева М.А. Определитель грибов России. Порядок афиллофоровые. Вып. 2. Семейства альбатрелловые, апорпиевые, болетопсиевые, бондарцевиевые, ганодермовые, кортициевые (виды с порообразным гименофором), лахнокладиевые (виды с трубчатым гименофором), полипоровые (роды с трубчатым гименофором), пориевые, ригидопоровые, феоловые, фистулиновые. СПб.: Наука. 1998: 391.
- Частухин В. Я. Флора грибов Мордовского государственного заповедника. Вестник Мордовского университета. Сер. «Биологические науки». 2011; 4: 90–115.
- Красная книга Республики Мордовия. В 2 т. Т. 1: Редкие виды растений, лишайников и грибов / сост. Т. Б. Силаева. Саранск : Мордов. кн. изд-во. 2003: 288.
- Красная книга Республики Мордовия. В 2 т. Т. 1 : Редкие виды растений и грибов. Изд. 2-е, перераб. и доп./ сост. Т.Б. Силаева. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та. 2017: 409.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М. : Товарищество науч. изд. КМК. 2008: 855.
- Ивойлов А.В. *Amanita vittadinii* в Республике Мордовия. Совр. микол. в России. Том 3. М., 2012: 110–111.
- Ивойлов А.В., Большаков С.Ю. О новой находке *Rubinoboletus rubinus* в России. Изв. Самарского науч. центра РАН. 2015; 17(4): 67–71.
- Ивойлов А.В. *Caloboletus radicans* (Pers.) Vizzini. (*Boletaceae*) в Республике Мордовия. Изв. Самарского науч. центра РАН. 2018; 20(5)3: 427–432.

НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ АФИЛЛОФОРОИДНЫХ ГРИБОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПЛЕЩЕЕВО ОЗЕРО» (ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Кондакова Г.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Национальный парк «Плещеево озеро» (НП) расположен в центральной части Русской равнины, в бассейне Верхней Волги, на юге Ярославской области в Переславском районе, в 130 км к северо-востоку от Москвы на федеральной трассе Москва – Холмогоры. Территория НП включает практически все биотопы, характерные для Средней полосы Европейской части России, начиная от верховых болот и бореальных ельников-зеленомошников и заканчивая широколиственными лесными массивами (дубравы, липняки, кленовики, вязовники, смешанные леса) и открытыми стациями (всевозможные луга, как пойменные, так и плакорные) [1].

Систематическое изучение микобиоты НП проводится с середины 90-х годов 20 в., однако основное внимание до сих пор уделялось агарикоидным и гастероидным базидиомицетам [2]. Сведения об афиллофороидных грибах НП и региона в целом весьма немногочисленны. В монографии А.С. Бондарцева (1953) сообщается о девяти видах трутовых грибов для Ярославской области: *Abortiporus borealis* (Fr.) Singer, *Antrodia mollis* (Somm.: Fr.) P. Karst., *Chaetoporus euporus* (P. Karst.) Bondartsev et Singer, *Coriolellus squalens* (P. Karst.) Bondartsev et Singer, *Oxyporus populinus* (Schum.: Fr.) Donk, *Polyporus subarcularius* (Donk) Bondartsev, *Polystictus circinatus* (Fr.) P. Karst. var. *triqueter* Bres., *Tyromyces lacteus* (Fr.) Murrill, *T. caesius* (Schrad.: Fr.) Murr. [3] Более детальные сведения о местонахождении и местообитании видов не приводятся. В 1997 г. О.Л. Лазарева в статье «Шляпочные грибы Ярославской обл. I. Переславский национальный парк» указывает пять видов афиллофороидных грибов, обнаруженных на территории НП: *Schizophyllum commune* Fr.: Fr., *Lentinus lepideus* (Fr.: Fr.) Fr., *Panus conchatus* (Bull.: Fr.) Fr., *Polyporus ciliatus* Fr.: Fr., *Polyporus melanopus* (Swartz: Fr.) Fr. [4] (названия видов приводятся без изменений).

Сведения ещё о трёх обитающих на территории НП видах присутствуют в региональной Красной книге (2015): *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr., *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. [5]. Два вида – *G. lucidum* и *P. umbellatus* – имеют государственный ранг охраны и занесены в Красную книгу Российской Федерации [6].

Систематическое изучение грибов этой группы на территории НП начато нами в 2016г. Были обследованы территории, являющиеся частью национального парка «Плещеево озеро»: памятники природы «Дубрава деревень Чашницы, Ям» (Дубр.) и «Долина реки Вёкса» (Вёкса), местечко Касарка (Кас.), северо-восточное побережье озера Плещеево с участками широколиственных лесов (Побер.), уникальный ландшафтный элемент – урочище Кухмарь (Кухм.), болото Блудово (Бл.). Сбор материала осуществляли с различных субстратов – почвы, опада, пней, валежной древесины, живых растений. Видовую принадлежность устанавливали в полевых условиях, а также в процессе камеральной обработки собранного материала с использованием научной литературы [7, 8, 9]. Частично сведения об афиллофо-

роидных грибах, обнаруженных в ходе исследования, приведены в двух публикациях автора, где указано 13 видов: *Cantharellus cibarius* Fr., *Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst., *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schröt., *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., *Hydnum repandum* L., *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Onnia tomentosa* (Fr.) P. Karst., *Phellinus tremulae* (Bondartsev) Bondartsev & P.N. Borisov, *Rhodofomes roseus* (Alb. & Schwein.) Vlasák, *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd [10, 11].

В результате дальнейшей обработки собранного материала были выявлены ещё 24 вида грибов этой группы, перечень которых приведен ниже. Виды, указанные в ранее опубликованных источниках, не приводятся.

Abortiporus biennis (Bull.) Singer. Кухм. Осинник с липой снытевый, на почве среди деревьев.

Artomyces pyxidatus (Pers.) Jülich. Кас. Березняк разнотравно-кисличный, на валежной древесине.

Cerioporus squamosus (Huds.) Quéf. Дубр. Дубняк разнотравно-зеленчуковый, на валежном стволе широколиственной породы.

Coltricia perennis (L.) Murrill. Кухм. Ельник с березой тростниково-вейниково-черничный, на почве.

Daedalea quercina (L.) Pers. Дубр. Дубняк разнотравно-зеленчуковый, на мёртвом стволе дуба.

Daedaleopsis confragosa (Bolton) J. Schröt. Дубр., дубняк разнотравно-зеленчуковый; Кас., ельник с дубом и орешником разнотравно-кисличный. На пнях, валеже и сухостое лиственных пород.

Fomitopsis betulina (Bull.) V.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai. Бл., сосново-березовые травяно-кустарничко-сфагновые сообщества с участием ив; Кас., березняк разнотравно-кисличный; Кухм., ельник с березой тростниково-вейниково-черничный; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом. На ослабленных деревьях, сухостое, валеже, пнях березы.

Ganoderma applanatum (Pers.) Pat. Дубр., дубняк разнотравно-зеленчуковый; Кухм., орешник с липой снытевый; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом. На пнях и мертвой древесине лиственных пород.

Hydnum repandum L. Кухм., березняк вейниково-мелкотравный; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом. На почве.

Hymenochaete rubiginosa (Dicks.) Lév. Дубр., дубняк разнотравно-зеленчуковый; Кас., осинник с дубом и осокой лесной; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом. На мертвой древесине дуба, изредка других лиственных пород, группой.

Hymenochaetopsis tabacina S.H. He & Jiao Yang. Кухм., орешник с липой снытевый; Кас., березняк разнотравно-кисличный; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом. Группами на мёртвой древесине лиственных пород.

Lentinus brumalis (Pers.) Zmitr. Кас. Ельник с осинкой и орешником пролесниковый, на валеже лиственных пород.

Lenzites betulina (L.) Fr. Кас. Березняк разнотравно-кисличный, на сухостойной берёзе.

Neolentinus cyathiformis (Schaeff.) Della Maggiora & Trassinelli. Вёкса. Березняк с примесью сосны осоково-сфагновый, на валежной древесине.

Peniophora cinerea (Pers.) Cooke. Дубр. Дубняк зеленчуковый, на сухой ветке клёна.

Peniophora rufa (Fr.) Boidin. Кас. Осинник неморальнотравный, на валежной осине.

Phellinus igniarius (L.) Quél. Вёкса. Березняк с примесью сосны осоково-сфагновый, на живой берёзе.

Phlebia acerina Peck. Дубр. Дубняк зеленчуковый, на сухой ветке клёна.

Punctularia strigosozonata (Schwein.) P.H.V. Talbot. Кухм. Осинник с липой снытевый, на валежной древесине лиственной породы.

Ramaria stricta (Pers.) Quél. Дубр. Дубняк разнотравно-зеленчуковый, на погруженных в почву ветках.

Stereum subtomentosum Rouzard. Дубр., дубняк разнотравно-зеленчуковый; Кухм., березняк с елью ланцетовейниково-сфагновый; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом; Вёкса, сосняк с березой пушистой и елью белокрыльничко-сфагновый. На мертвой древесине лиственных пород.

Trametes ochracea (Pers.) Gilb. & Ryvarden. Кас., ельник с березой лещиновый кислично-зеленчуковый; Побер., липняк неморальнотравный с вязом, кленом и дубом. На пнях, стволах и валеже лиственных пород.

Trametes trogii Berk. Кас. Ельник с березой лещиновый кислично-зеленчуковый, на валеже лиственной породы.

Trichaptum bifforme (Fr.) Ryvarden. Дубр., дубняк разнотравно-зеленчуковый; Кас., ельник с березой лещиновый кислично-зеленчуковый. На пнях, стволах и валеже лиственных пород.

Таким образом, с учётом всех имеющихся сведений разнообразии биоты афиллофороидных грибов НП «Плещеево озеро» составляет 45 видов, среди которых есть как широко распространённые, так и редкие, охраняемые на региональном и федеральном уровнях.

Автор выражает благодарность к.б.н., ст. научному сотруднику лаборатории систематики и географии грибов БИН РАН С.В. Волобуеву, к.б.н., доценту кафедры микологии и альгологии МГУ им. М.В. Ломоносова

Е.Ю. Ворониной за консультации и помощь в определении видов.

Список литературы

1. Национальный парк «Плещеево озеро». Фотоальбом. – М.: АСТ-Пресс школа, 2018. 120 с.
2. Лазарева О.Л. Редкие и уязвимые виды грибов национального парка «Плещеево озеро» // Особо охраняемые природные территории: состояние, проблемы и перспективы развития: материалы Всероссийской научно-практической конференции (с международным участием) 23-26 сентября 2018 г. – Ярославль, Филигрань, 2018. – с. 49-51.
3. Бондарцев А.С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. М.; Л.: Изд-во
4. АН СССР, 1953. 1107 с.
5. Лазарева О.Л. Шляпочные грибы Ярославской обл. I. Переславский национальный парк // Микология и фитопатология, 1997. – Т. 31. – Вып. 6. С. 7-13.
6. Красная книга Ярославской области. Ярославль: Академия 76, 2015. С. 23-39.
7. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М.: М.: Товарищество научных изданий КМК. 2008. С.769-770, 778-779.
8. Бондарцева М. А. Определитель грибов СССР. Порядок афиллофоровые / М. А. Бондарцева, Э. Х. Пармасто. Л. : Наука, 1986. Вып. 1. 192 с.
9. Бондарцева М. А. Определитель грибов России. Порядок афиллофоровые. СПб. : Наука, 1998. Вып. 2. 391 с.
10. Пармасто, Э. Х. Определитель рогатиковых грибов СССР. Л. : Наука, 1965. 165 с.
11. Кондакова Г.В. Грибы национального парка «Плещеево озеро» : атлас-определитель / Яросл. гос. ун-т. Ярославль, 2018. – 50 с.
12. Кондакова Г.В. Некоторые итоги изучения разнообразия грибов местечка «Касарка» (НП «Плещеево озеро») // Особо охраняемые природные территории: состояние, проблемы и перспективы развития: материалы Всероссийской научно-практической конференции (с международным участием) 23-26 сентября 2018 г. – Ярославль, Филигрань, 2018. – с. 40-43.

АФИЛЛОФОРОВЫЕ ГРИБЫ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ: ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Коткова В.М.¹, Колганихина Г.Б.²

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

²Институт лесоведения РАН, с. Успенское

Воронежская область расположена в центральной части Восточно-Европейской равнины и относится к Центральному Федеральному округу Российской Федерации. Первые исследования микобиоты Воронежской губернии проведены в 1912–1913 гг. А.С. Бондарцевым и Л.А. Лебедевой, которые были командированы Департаментом Земледелия для обследо-

вания грибных вредителей культурных растений [1]. Ими были обследованы различные районы, а опубликованный список из 470 видов грибов (преимущественно микромицетов), включал также данные о 28 видах афиллофоровых грибов. В 1920–1930-е годы фитопатологические исследования на территории области проводили И.И. Ванин [2] и Ф.А. Соловьев [3]. С

1945 г. изучением микобиоты различных территорий области занимались А.Т. Вакин [4, 5], В.Я. Частухин [6–8], Э.А. Оганова [9], Э.П. Беденко [10] и некоторые другие. С 1980-х годов изучение микобиоты, включая афиллофоровые грибы, Воронежской области стали проводить сотрудники Воронежского государственного университета под руководством А.И. Ртищевой [11–14; и др.], а в последующие годы Г.М. Мелькумов с коллегами [15, 16, и др.]. В настоящее время изучение биоты афиллофоровых грибов на территории Воронежской области продолжается сотрудниками ВГУ, ИЛАН РАН и БИН РАН.

К наиболее хорошо изученным территориям области относятся Воронежский государственный природный биосферный заповедник имени В.М. Пескова, Теллермановское опытное лесничество ИЛАН РАН и Хоперский государственный природный заповедник, расположенные в лесостепной зоне.

Северная часть Воронежского государственного природного биосферного заповедника имени В.М. Пескова (ВГПБЗ), который занимает часть островного лесного массива Усманского бора, расположена в Верхнехавском районе Воронежской области. Исследования микобиоты на территориях, которые относятся в настоящее время к заповеднику, были начаты А.С. Бондарцевым и Л.А. Лебедевой в Графском лесничестве [1]. Позднее в 1946–1952 гг. изучение грибов ВГПБЗ проводил В.Я. Частухин [6, 7]. Некоторые сведения об афиллофоровых грибах заповедника можно найти в работах фитопатологов и в отчетах заповедника. В конце XX века изучение грибов ВГПБЗ проводила А.И. Ртищева. В первом сводном списке для заповедника приводится 191 вид макромицетов, в том числе 34 вида афиллофоровых грибов [12]. Дальнейшие исследования на территории ВГПБЗ совместно с А.И. Ртищевой проводил А.А. Афанасьев, а также сотрудники заповедника под руководством Е.А. Стародубцевой и Л.А. Сарычева [14, 17; и др.]. В 2018 г. специальное изучение видового разнообразия афиллофоровых грибов проведено В.М. Котковой [18]. В конце июня 2019 г. на базе ВГПБЗ прошел IV Международный курс по изучению мертвой древесины, участниками которого также были выявлены некоторые афиллофоровые грибы [19]. В настоящее время на территории ВГПБЗ, относящейся к Воронежской области, выявлено 226 афиллофоровых грибов.

Изучение микобиоты Теллермановского опытного лесничества ИЛАН РАН, расположенного в Грибановском районе Воронежской области и находящегося в северо-восточной части известного островного массива — Теллермановского леса, было также начато А.С. Бондарцевым и Л.А. Лебедевой в 1912 г. [1]. Плановое исследование дереворазрушающих грибов на этой территории проводится с 1930-х годов [3–5, 9, 20–25; и др.] и продолжается в настоящее время. На территории Теллермановского опытного лесничества в общей сложности выявлено 126 видов афиллофоровых грибов.

Хоперский государственный природный заповедник (ХГПЗ), расположенный на территории Новохоперского, Поворинского и Грибановского районов, занимает юго-западную часть того же островного массива, что и Теллермановское опытное лесничество ИЛАН РАН. Изучение микобиоты ХГПЗ начато в 1960-х гг. И.А.

Алексеевым, но его материалы хранятся в основном в виде рукописей в заповеднике [по: 13]. Дальнейшее исследование макромицетов заповедника проведено А.И. Ртищевой и Н.А. Родионовой в 1990–2005 гг. Ими было выявлено 315 видов макромицетов, включая 75 видов афиллофоровых грибов [13]. Дальнейшие исследования были продолжены авторами в 2018 г. [25] и в настоящее время для ХГПЗ известно около 100 видов афиллофоровых грибов.

В настоящее время с учетом литературных, гербарных и собственных сведений авторов на территории Воронежской области выявлено 302 вида афиллофоровых грибов. В последнее издание Красной книги Воронежской области включено 7 видов грибов из данной группы и 6 видов занесено в список для мониторинга. Еще ряд редких видов афиллофоровых грибов также нуждаются в охране и предлагаются нами для занесения в список охраняемых на территории Воронежской области – *Haralopilus croceus* (Pers.) Donk, *Perenniporia medulla-panis* (Jacq.) Donk, *Piptoporellus soloniensis* (Dubois) B.K. Cui, M.L. Han & Y.C. Dai, *Rigidoporus crocatus* (Pat.) Ryvarden и *Xylobolus frustulatus* (Pers.) Boidin.

Работа В.М. Котковой поддержана Программой фундаментальных исследований РАН I.2.41 (проект «Биологическое разнообразие и динамика растительного мира России»).

Список литературы

1. Бондарцев А., Лебедева Л. Грибные паразиты Воронежской губернии, собранные летом 1912 года. Материалы по микологическому обследованию России. 1914. I: 1–98.
2. Журнал 32 заседания Секции по Микологии и Фитопатологии Русского Государственного Ботанического Общества. Материалы по Микологии и Фитопатологии. 1927. VI (1): 336–337.
3. Соловьев Ф.А. Грибные болезни дубрав Шипова леса и Теллермановской рощи. Труды Лесотехнической академии им. С.М. Кирова. 1936. № 49: 78–125.
4. Вакин А.Т. Грибные повреждения древесины лиственных пород в Теллермановском лесу. Труды института леса АН СССР. 1950. 3: 107–132.
5. Вакин А.Т. Фитопатологическое состояние дубрав Теллермановского леса. Труды института леса АН СССР. 1954. 16: 6–109.
6. Частухин В.Я. Усыхание дуба в Воронежской области и причины этого явления. Труды Воронежского государственного заповедника. 1949. III: 70–88.
7. Частухин В.Я. Микофлора дубрав и лесных полос Воронежской области. Труды комплексной научной экспедиции по вопросам ползащитного лесоразведения АН СССР. Т. 2. М., 1952: 54–67.
8. Частухин В.Я., Николаевская М.А. Биологический распад и ресинтез органических веществ в природе. Л.: Наука. 1969: 326 с.
9. Оганова Э.А. Естественное разрушение древесины дуба. Труды Института леса АН СССР. 1954. 16: 129–143.
10. Беденко Э.П. К флоре грибов-макромицетов Среднерусской возвышенности. I. Новости систематики низших растений. 1985. 22: 110–114.

11. Ртищева А.И. Редкие виды грибов Центрального черноземья и их охрана. Микология и фитопатология. 1991. 25(3): 218–219.
12. Ртищева А.И. Макромицеты. Флора Воронежского заповедника. Флора и фауна заповедников. Т. 78. 1999: 126–141.
13. Ртищева А.И., Родионова Н.А. Миксомицеты и макромицеты Хопёрского государственного природного заповедника. Воронеж: ВГПУ. 2005: 35 с.
14. Афанасьев А.А., Ртищева А.И., Стародубцева Е.А. Базидиальные макромицеты Воронежского заповедника. Труды Воронежского государственного заповедника. 2007. XXIV: 40–60.
15. Мелькумов Г.М. Субстратная специализация возбудителей болезней древесного компонента парковых зон города Воронежа. Вестник Воронежского аграрного университета. 2014. № 1–2: 57–62.
16. Мелькумов Г.М. Видовой состав и экологические особенности афиллофороидных макромицетов Новоусманского района Воронежской области. Глобальные экологические проблемы: локальное решение. Материалы II Международной научной конференции. Борисоглебск. 2019: 97–100.
17. Сарычева Л.А., Стародубцева Е.А., Сапельникова И.И. Микобиота Воронежского заповедника. Макромицеты. Труды Воронежского государственного заповедника. 2016. XXVIII: 7–75.
18. Коткова В.М. Новые сведения об афиллофоровых грибах Воронежского государственного природного биосферного заповедника (Воронежская область). Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология». 2019. № 2(54): 195–210. <https://doi.org/10.26456/vtbio83>
19. Kalinina L., Leostrian A., Lu D., Skrede I., Viner I., Filippova N., Shumskaya M., Schigel D. 2019. 2019 ForBio and UiO International Dead Wood Course. Biodiversity assesment. Version 1.5. Voronezhsky State Nature Biosphere Reserve named after V. Peskov. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/bwnsxn> accessed via GBIF.org on 2020-02-28.
20. Селочник Н.Н. Состояние дубрав Среднерусской лесостепи и их грибные сообщества. М.-СПб. 2015: 216 с.
21. Стороженко В.Г., Коткова В.М., Чеботарев П.А. Динамика трансформации коренных дубрав и дереворазрушающие базидиальные грибы Теллермановского леса (Воронежская область). Вестник Московского государственного университета леса — Лесной вестник. 2014. 18(4): 77–84.
22. Стороженко В.Г., Чеботарев П.А., Коткова В.М., Чеботарева В.В. Дереворазрушающие грибы и гнилевые фауны спелых и перестойных дубрав Теллермановского леса (Воронежская область). Грибные сообщества лесных экосистем. Т. 5. М.; Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2018: 106–117.
23. Колганихина Г.Б. К изучению дендротрофных грибов Теллермановского леса. Материалы 4 Съезда микологов России. Т. 6. М.: Национальная Академия Микологии. 2017: 217–219.
24. Коткова В.М., Колганихина Г.Б., Дединова Н.Н. Новые микологические находки для регионов России. 2. Новости систематики низших растений. 2018. 52(2): 373–378. <https://doi.org/10.31111/nsnr/2018.52.2.373>.
25. Коткова В.М., Колганихина Г.Б. Новые микологические находки для регионов России. 3. Новости систематики низших растений. 2019. 53(1): 79–88. <https://doi.org/10.31111/nsnr/2019.53.1.79>

ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ И МОНИТОРИНГ МИКОБИОТЫ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ РОССИЙСКОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА.

Кравина Е.А.¹, Козьминов С.Г.¹, Кушалиева Ж.А.², Тайсумов М.А.², Гадаборашева М.А.³, Берсанова А.Н.³, Дакиева М.К.⁴

¹ Кабардино-Балкарский государственный университет, Нальчик

² Чеченская Академия Наук, Грозный

³ Государственный природный заповедник «Эрзи», Магас

⁴ Ингушский государственный университет, Магас

Работа по инвентаризации микобиоты заповедных территорий регионов Российской части Центрального Кавказа имеет большое значение для мониторинга изменений структуры биоразнообразия природных экосистем под воздействием антропогенных и природных факторов. В связи с постоянным антропогенным прессом данная проблема является весьма актуальной, так как возникает опасность исчезновения не только отдельных видов и родов, но и более крупных таксономических групп (Ширяев, 2006).

Кабардино-Балкарский высокогорный государственный заповедник (КБВГЗ). Аннотированный список макромицетов лесных экосистем КБВГЗ, насчитывает 242 видов, относящихся к 103 родам, 51 семейству,

20 порядкам и трем классам, из них 34 вида впервые указываются для территории Кабардино-Балкарской Республики и всей западной части Центрального Кавказа (*Trazzetta caninus* (Holmskj : Fr) Karof.: Rogera; *T. cupularis* Fr.; *Scutelinia scutellata* (L.: Fr.) Lambotte; *S. crassa* (Santi ex Steudel) Pouzar.; *Canocibe lactea* (Lge.) Metr; *Panaeolus campanulatus* (Fr.) Quel.; *Entoloma conferendum* (Britz) Nooderloos; *E. sordidulum* (Kühn: Romagn) Orton; *Marasmiellus omphaliformis* (Kühner) Noderloos; *Mycena acicula* (Shs)Kumm.; *M. cinerella* (Karsten) Karsten; *M. leptophylla* (Peck) Saccardo; *M. sanguinolenta* (Alb: Schw: Ffr.) Kummer; *Tricholoma malicorium* Fr.; *T. sculpturatum* (Fr.) Quelet; *Auricula auricula-judae* (Bull: Fr) Wettstein; *Cantharellus pallens* Pilat; *Cortinarius argutus* Fr.; *C. croceus*

(Sch: Fr.) Britz; *C. paragaudia* Fr.; *Hebeloma mesophaem* (Pers: Fr.) Quel; *Trichaster melanocephalus* Czern; *Bovista plumbea* Pers: Pers; *Polyporus varius* (Pers.) Fr.; *Lactarius mairei* Mal.; *Russula ochroleuca* (Pers.) Fr.; *R. sanguila* Fr.; *R. xerampelina* Shaeff.; *Cytidia salicina* (Fr.: Fr.) Burt и др.

Заказник «Кара-Су» – Состав микобиоты макромицетов заказника Кара-Су насчитывает 151 вид из 70 родов, 36 семейств, 113 порядков и 2 классов (Крапивина, Шхагапсоев; 2005).

Заказник «Гедуко» – выявлено 163 вида, которые относятся к 90 родам, 42 семействам и 16 порядкам и трем классам, из них новыми для всей территории Кабардино-Балкарской Республики являются 19 видов из 15 родов, 10 семейств и 5 порядков класса *Basidiomycetes* (*Lepiota brunneoincarnata*; *L. helveola* Bresadola; *Coprinus radians* (Desm)Fr.; *Entoloma jubatum* (Fr:Fr) Karsten; *Pholiota astragalina* (Fr:Fr) Sing; *Ph. highlandensis* (Perck) Simith; *Flammulina ononidis* Arnolds; *Melanoleuca cognata* (Fr) Konrad et Mauwhite; *Micromphale brassicolens* (Romangnesi) Orton; *Omphalina umbellifera* (L.:Fr) Quel; *Ramaria stricta* (Pers: Fr) Quelet; *Aurantioporus fissilis* (Berk: Curk) Jalm; *Meripilus giganteus* (Pers:Fr) Karsten; *Meruliopsis taxicola* (Pers:Fr) Bondartsev; *Gloephyllum abientinum* (Fr) Kersten; *Scleroderma aerolatum* Ehb.; *Sterium hirsutum* (Willd.: Fr.) SF Gray; *S. rugosum* Pers ; *Eicheriella deglubens* (Berk. Et Broome) D.A. Reid). (Крапивина 2008).

Государственный биологический заказник «Зеленая зона города г. Грозный» (Чеченская Республика). В спектре ведущих семейств первые места занимают *Tricholomataceae* (26 видов), *Cortinariaceae* (16), в состав которых входит 29,16% видов..Семейства, содержащие по 2 вида: *Auriculaceae*, *Cantharellaceae*, *Geastraceae*, *Lycoperdaceae*, *Sclerodermataceae*, *Tremellaceae*, *Pezizaceae*. Ведущими семействами по числу видов являются *Tricholomataceae* и *Cortinariaceae*, такое положение характерно для бореальных флор (Морозова 2001) и придает микобиоте европейские черты. В результате исследований было выявлено 113 видов, которые относятся к 90 родам, 42 семействам и 16 порядкам и трем классам, из них новыми для всей территории Чеченской Республики являются 15 видов из 12 родов, 10 семейств и 5 порядков класса *Basidiomycetes*.

К территории заповедника «Эрзи» относится Таргимская аридная котловина, бассейн реки Асса и часть Скалистого хребта, являющиеся резервуаром редких, реликтовых и эндемичных видов. В геоморфологическом отношении территория расположена в пределах высокогорного и среднегорного рельефа Большого Кавказа. Преобладающим типом растительных сообществ являются: сосновые, буковые, дубовые и березовые леса. В пределах Чечни и Ингушетии низшие растения являются наименее изученными группами. Предварительный список представлен 72 видами, из 43 родам,

31 семейству, 12 порядкам, и 3 классам. Ядро микобиоты составляют следующие семейства *Russulales*, *Marasmiaceae*, *Agaricales*, *Polyporaceae*, *Strophariaceae*, *Pleurotaceae*, *Helvellaceae* – содержат 40 видов (55,53% от общего числа), относящиеся в 18 родам. Ведущие рода *Russula*, *Lactarius*, *Agaricus*, *Marasmius*, *Pleurotus*, *Trametes* содержат 25 видов (33, 73% от общего числа видов) (Гадаборшева М.А., Крапивина Е.А., Дакиева М.К., Берсанова А.Н. 2018).

Составление конспектов микобиоты особо охраняемых территорий важны в микозоэкологическом и микогеографическом аспектах исследования региональных микобиот при проведении исследований по изучению географической дифференциации и реакции грибных сообществ на природные и антропогенные факторы. Инвентаризация и анализ микобиоты являются необходимой основой для поиска путей сохранения природного разнообразия не только грибов, но и экосистем, в которых они обитают.

Список литературы

1. Гадаборшева М.А., Крапивина Е.А., Дакиева М.К., Берсанова А.Н. К исследованиям макромицетов заповедника «Эрзи»// Ботаника в современном мире. Труды XIV съезда Русского Ботанического и конференции «Ботаника в современном мире» Махачкала 2018. Т.3 С. 97-98
2. Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х. 2005. Анализ биоты и конспект макромицетов заказника «Кара-Су» // В сб.: Природа Черекского района Кабардино-Балкарии и её охрана. Нальчик. – С. 76-90
3. Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х. 2008. Трофическая структура биоты макромицетов Кабардино-Балкарского высокогорного заповедника (Центральный Кавказ) // Материалы юбилейной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения М.В. Горленко «Высшие базидиальные грибы: индивидуумы, популяции, сообщества» Москва ООО «Из-во «Восток-Запад» С.193-194.
4. Крапивина Е.А., Матаева М.Б., Шхагапсоев С.Х. 2008. Таксономическая структура заказника «Гедукский лес»// Материалы международной научной конференции, посвященной 135 – летию со дня рождения И.И. Спрыгина «Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения» Пенза Ч.1. С 381-383
5. Морозова О.В. 2001. Агарикоидные базидиомицеты подзоны южной тайги Ленинградской области. Дисс. ... канд. биол. наук. СПб.: БИН РАН, 250с.
6. Ширяев А.Г. Высотная дифференциация биоты клавариоидных грибов северо-западного Кавказа // Мат-лы VIII международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа» часть 3 (экология, валеология, экономика). Нальчик 2006. С.82 – 84

ГРИБЫ СЕМЕЙСТВА GEASTRACEAE: РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ОСНОВНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ В ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Курочкин С.А.

Тверской государственный университет

Гастероидные базидиомицеты очень интересная группа грибов, включающая по данным википедии около 1000 видов из 110 родов (<https://ru.wikipedia.org/wiki>), которая характеризуется в основном ангиокарпным, закрытым типом развития плодовых тел с отрицательным геотропизмом. Гименофор практически не выражен, а сам гимениальный слой развивается внутри камер под перидием. Когда созревают споры, гимений разрушается, превращаясь тем самым в пылящую массу. К настоящему времени на территории Тверской области зафиксировано 33 вида гастероидных базидиомицетов (Курочкин, 2017). Из них, к семейству *Gasteraceae* – звездовиковые, или геастровые, на данной территории относится 7 видов из двух родов.

Род *Geastrum* – звездовик. Этот род был описан, как отмечал П.Е. Сосин (1952), Микели (Micheli) в 1729 году как *Geaster*. Диагностическими признаками этого рода в его современном понимании, как пишет Ю.А. Ребриев (2007), являются трехслойный экзоперидий, звездчато раскрывающийся у зрелых плодовых тел, наличие настоящего капиллиция и одной неразветвленной колумеллы. Эндоперидий открывается одним отверстием, достаточно прочен у большинства видов, либо исчезает к моменту раскрытия плодового тела (*Geastrum melanocephalum*). И в настоящее время известно около 50 видов земляных звезд. На территории Тверской области отмечено 5 видов этого рода.

Звездовик увенчанный – *Geastrum coronatum* Pers. Редкий вид.

Распространение. Европа, Европейская часть России, Северный Кавказ, Азия, Северная Америка, Африка, Австралия (Шварцман, Филимонова, 1970; Сосин, 1973; Гарибова, Сидорова, 1997).

В Тверской области встречается редко, небольшими группами, в парках и скверах под листовыми деревьями и кустарниками, на почве, ежегодно, с августа по октябрь (ноябрь). Иногда плодовые тела сохраняются до весны. В раннем возрасте само тело шаровидное (до 2 – 2,5 см), частично подземное. На поверхности почвы, позднее, экзоперидий разрывается на лопасти (до 10) темно-коричневого цвета в свежем виде и серые – в сухом. Глеба одета эндоперидием, обратнойяцевидная с ножкой и апофизой. Перистом конический, волокнистый, с резко отграниченным двориком. Эндоперидий серый, иногда коричневого или черноватого цвета. Сапротроф, который большей частью, развивается на гумусе. Отмечен в Калининском районе (Курочкин, 1991; Курочкин, 1993; Курочкин, Медведев, 1998; Курочкин, 2005; Курочкин, Ребриев, 2005) в нескольких парках и скверах города Твери. Занесен в Красную книгу Тверской области (2016).

Звездовик бахромчатый – *Geastrum fimbriatum* Fr. Редкий вид.

Распространение. Европейская часть России, Северный Кавказ, Восточная Сибирь и Дальний Восток (Приморский край), Европа, Азия, Северная Америка, Африка, Австралия (Сосин, 1973; Гарибова, Сидорова, 1997; Ребриев, 2007).

В Тверской области встречается редко, ежегодно, группами в сосновых, реже в смешанных лесах на почве, с июля по октябрь. Плодовое тело в раннем возрасте шаровидное, или яйцевидное, до 3 см, развивается в земле. С возрастом, экзоперидий разрывается и расходуется в стороны в виде звезды, образуя до 5-10, иногда и более лопастей, от 3 до 7 см в диаметре. Они острые, часто завернуты вниз. Сама глеба одета эндоперидием, в виде шара, сидячая, до половины погруженная в экзоперидий. Эндоперидий довольно гладкий, может быть шероховатым, бледно-желтого или коричневого цвета, открывается волокнисто-реснитчатым отверстием с конусовидной перистой. Глеба буро-желтого цвета. Сапротроф, отмеченный на подстилке и на гумусе. Отмечен в Калининском (Курочкин, 2002; Курочкин, Ребриев, 2005) и Фировском районах области (находка А.Г. Медведева, 29.07.2019). Занесен в Красную книгу Тверской области (2016), а также Красные книги Курской и Пензенской областей (Ребриев, 2007).

Звездовик черноголовый – *Geastrum melanocephalum* Czern. Неопределенный по статусу вид. «Метеорный» вид, практически за последние два года не отмечен на найденных территориях.

Распространение. Европа, Европейская часть России, Кавказ, Азия, Северная Америка (Шварцман, Филимонова, 1970; Гарибова, Сидорова, 1997).

В Тверской области встречается очень редко, небольшими группами. Отмечен в парках и скверах города под листовыми деревьями и кустарниками на почве, с августа по сентябрь (октябрь). А также в Ботаническом саду города. Молодые плодовые тела напоминают луковицу (5 – 7 x 4 – 6 см), с острым носиком (до 2 см), от белого до темно-бурого цвета. При созревании перидий разрывается на неравные лопасти, распластанные по земле и поднимающие над ней шаровидную, темную, порошащуюся, чуть волокнистую глебу. Зрелая глеба темно-коричневого цвета, которая распадается на массу спор. Сапротроф, встречается на гумусе. Занесен в Красные книги Курской, Липецкой, Пензенской и Тверской областей (Ребриев, 2007; Курочкин, 2017).

Звездовик гребневидный – *Geastrum pectinatum* Pers. Редкий вид.

Распространение. Европа, Европейская часть России, Восточная Сибирь и Дальний Восток, Азия, Северная Америка, Африка, Австралия (Шварцман, Филимонова, 1970; Сосин, 1973; Гарибова, Сидорова, 1997).

В Тверской области встречается редко, небольшими группами, не ежегодно, в сосновых и сосново-еловых лесах, среди опавшей хвои на почве, с августа по октябрь (ноябрь). Отмечен в центральных и восточных районах области (Курочкин, 1993; Курочкин, Медведев, 1998; Курочкин, Ребриев, 2005). Плодовое тело с развернутыми лопастями (6 – 9) может достигать до 7 см в диаметре. Центральная часть экзоперидия выпуклая, лопасти упираются в почву. Экзоперидий твердый, с трещиноватым слоем, слущивающимся большими или мелкими куса-

ми, в центре со вздутым полосатым кольцевидным валом-апофизой. Эндоперидий шаровидный 1 – 2 см в диаметре, с ясно выраженной довольно тонкой ножкой 5 – 9 мм длиной. Перистом удлинено-конусовидный, с диском. У отверстия зубчатый, реснитчато-волоконистый. Сапротроф, который развивается большей частью, на подстилке. Занесен в Красные книги Ленинградской (Ребриев, 2007) и Тверской области (2016).

Звездовик четырехлопастной – *Geastrum quadrifidum* DC: Pers. Редкий вид. Распространение. Европейская часть России, Северный Кавказ и Восточная Сибирь, Европа, Азия, Северная и Южная Америка, Африка, Австралия (Сосин, 1973; Гарибова, Сидорова, 1997; Ребриев, 2007).

В Тверской области встречается редко группами в светлых сосновых и сосново-лиственных лесах среди опавшей хвои, на почве, с августа по октябрь (ноябрь), не ежегодно. Отмечен в центральных районах (Вышневолоцкий, Калининский, Кимрский, Конаковский) области (Курочкин, 2017). Плодовое тело в раннем возрасте шаровидное (2 – 2,5 см), или сплюснутое, подземное, в раскрытом виде до 5-9 см в диаметре. Экзоперидий двухслойный: наружный слой образует чашу, разрывается на 4 лопасти поднимающиеся вверх; внутренний слой также разрывается на 4 лопасти, они опираются своими концами на острые концы лопастей наружного слоя. Глеба одета эндоперидием, сливовидная на ножке, с апофизой у основания. Перистом конусовидный, волоконистый, с двориком. Эндоперидий синевато-серого, иногда коричневатого или черноватого цвета. Сапротроф, который развивается на подстилке. Занесен в Красную книгу Тверской области (2016).

Звездовик рыжеватый – *Geastrum rufescens* Pers.: Pers. Очень редкий.

Распространение. Европа, Северная и Центральная Америка, Азия (Ребриев, 2007).

В Тверской области встречается очень редко, группами, не ежегодно, в сосновых лесах, среди опавшей хвои, на почве, с августа по сентябрь. Отмечен в Калининском районе (Курочкин, 2017). Этот представитель один из самых крупных видов рода, который имеет плодовые тела до 15 см в диаметре с раскрывшимися лопастями. Молодые плодовые тела вначале полуподземные, шаровидные или яйцевидные. Экзоперидий может разорваться на 5-10 лопастей, которые немного изогнуты книзу, беловато бежевого цвета с красноватым оттенком. Эндоперидий, окружающий глебу, шаровидный на короткой ножке, от беловатого до коричневатого цвета. Перистом сосцевидный, большей частью плоский. Сапротроф, который развивается на подстилке. Занесен в Красную книгу Липецкой области (2005).

Род *Sphaerobolus* Pers. – сфероболус.

Плодовые тела до 1 см, округлые. Перидий многослойный, который может раскрываться звездообразно на 5—8 лопастей и выбрасывать наружу одну шаровидную перидиолу. Грибница образует в субстрате крупные мицелиальные тяжи. Встречается скученными группами на гниющей древесине, на навозе травоядных животных. Род включает 7 видов. В России 1 вид (Гарибова, Сидорова, 1997). На территории Тверской области отмечен 1 вид.

Сфероболус звездчатый – *Sphaerobolus stellatus* Tode : Pers. Редкий вид.

Распространение. Европейская часть России, Северный Кавказ и Сибирь (Гарибова, Сидорова, 1997).

В Тверской области встречается довольно редко в сосновых лесах (черничниках, зеленомошниках) на гниющей древесине (веточках, сучьях), среди мха, под мхом, большими группами, с (июля) августа до сентября, ежегодно. Отмечается в центральных районах (Бологовский, Вышневолоцкий, Калининский, Удомельский) области. Плодовое тело вначале шаровидное до 0,3 см в диаметре, позднее многослойный перидий звездчато раскрывается от верхушки к основанию. Внутренний слой сферически выворачивается наружу и выталкивает единственную перидиолу (спорохранилице), которая имеет форму шара, коричневатая и блестящая (до 0,1 см диаметром). После выталкивания перидиоли плодовое тело становится сероватым или имеет желтоватый оттенок. Сапротроф, который развивается на разрушенной древесине.

Список литературы

1. Курочкин С.А. Видовое разнообразие и особенности трофической специализации гастероидных базидиомицетов Тверской области /Современная микология в России. Ред.: Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев. М.: Нац. акад. микол. 2017. Том 6. Стр.136-137.
2. Сосин П.Е. Гастеромицеты Украинской ССР: Дис. ...докт. биол. наук. Т.2. Л., 1952. Стр. 342-825.
3. Ребриев Ю.А. Гастеромицеты рода *Geastrum* в России. Микол. и фитопатол. 2007; 41 (2): Стр. 139-151.
4. Шварцман С.Р., Филимонова Н.М. Флора споровых растений Казахстана. Т.6: Гастеромицеты-Gasteromycetes. Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1970. 316 с.
5. Сосин П.Е. Определитель гастеромицетов СССР. Л.: Наука, 1973. 163 с.
6. Гарибова Л.В., Сидорова И.И. Грибы. Энциклопедия природы России. М.: АБФ, 1997. 352 с.
7. Курочкин С.А. Флора грибов Тверской области. Гастеромицеты //Флора и растительность южной тайги. Тверь: ТвГУ, 1991. С.50-54.
8. Курочкин С.А. Макромицеты Тверской области (Агарикоидные и гастероидные базидиомицеты): дис. ...канд. биол. наук. СПб., 1993. 416 с.
9. Курочкин С.А., Медведев А.Г. Материалы к флоре Тверской области. Грибы. Тверь: ТвГУ, 1998. Ч. 3. 30 с.
10. Курочкин С.А. о некоторых новых и редких видах макромицетов Тверской области //Вестник ТвГУ. Серия: Биология и экология. 2005. Вып. 1, № 4 (10). С.120-121.
11. Курочкин С.А., Ребриев Ю.А. Гастероидные базидиомицеты Тверской области //Микол. и фитопатол. 2005. Т. 39, вып.3. С. 55-60.
12. Красная книга Тверской области.- Изд. 2-е, перераб. и доп. –Тверь: Тверской Печатный Двор, 2016.- 400 с.
13. Курочкин С.А. Эколого-биологические аспекты гастероидных базидиомицетов Тверской области // Современная микология в России. Тезисы докладов 1 съезда микологов. М., Национальная академия микологии. 2002, С. 63.
14. Красная книга Липецкой области. М.: КМК, 2005. Т. 1. 510 с.

МИКОБИОТА ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ОКРЕСТНОСТЕЙ ГОРОДА КАДЖАРАН (РЕСПУБЛИКА АРМЕНИЯ)

Матевосян Р.Э., Элоян И.М., Шахазизян И.В., Есаян Т.А., Нанагюлян С.Г.
Ереванский государственный университет, Армения

Микромицеты являются одним из важнейших компонентов почвы, распространены повсеместно, но их первичное местообитание – почва. Микромицеты оказывают существенное влияние на различные процессы, протекающие в почве, такие как образование специфических метаболитов, органического вещества и т.д. [1]. Почвенные грибы являются одной из наиболее обширных и разнообразных экологических групп грибов, использующихся в целях биоиндикации на молекулярном, клеточном, популяционном уровнях [2].

Почвообитающие грибы являются одним из наиболее сложных для исследования групп грибов. Причиной этому является их существование в очень сложной, гетерогенной среде. Почва населена огромным числом разных организмов. Следует отметить, что микрофлора почвы находится в не стабильном состоянии. Численность и видовой состав микроорганизмов почвы меняются в зависимости от состояния растительности, сезона, степени нарушенности биоценоза, уровня загрязненности и т.п.

Высокая распространенность патогенных микромицетов в природе диктует необходимость изучения микобиоты почв разных регионов. В связи с этим, нами были проведены исследования видовой состава микромицетов, выделенных из почв зоны техногенного загрязнения. Исследованная территория находится в окрестностях города Каджаран (Республика Армения), где расположен Зангезурский медно-молибденовый комбинат.

Для микологических исследований почвенных микромицетов был применен метод серийных разведений, основанный на использовании водно-почвенной суспензии (1: 10, 1: 100, 1: 1000, 1: 10000), с последующим посевом на агаризованную среду [3]. Рост грибов проводился при температуре $28 \pm 2^\circ\text{C}$, продолжительность опыта варьирует от 4 до 14 дней. Для идентификации грибов использовался метод микроскопирования, исследования культуральных свойств грибов проводилось по типу колоний и характеру роста [4; 5; 6].

В ходе работы было отобрано 6 образцов из загрязненных участков почв и один образец - с незагрязненной субстрата в качестве контроля.

Из исследуемых проб почвы нами было идентифицировано 26 видов микромицетов, которые представлены двумя отделами Mucoromycota (syn.: Zygomycota) и Ascomycota. Из отдела Mucoromycota было обнаружено 5 видов грибов: *Absidia butleri*, *A. ramosa*, *Dimargaris cristalligena*, *Rhizopus microsporus*, *R. stolonifer*, которые встречаются во всех исследуемых образцах, кроме контроля.

Из отдела Ascomycota был обнаружен 21 вид грибов. К ним относятся *Aspergillus clavatus*, *A. flavipes*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. restrictus*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *Cladosporium lignicola*, *Fusarium avenaceum*, *F. concolor*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *F. moniliforme*, *Geotrichum flavobrunneum*, *Monosporium silvaticum*, *Penicillium adametzii*,

P. verruculosum, *P. lanosum*, *Stemphylium ilicisi*, *Trichoderma koningii*, *Trichosporiella hyaline*.

В исследуемых нами почвах преобладают представители рода *Aspergillus*, менее обильны грибы рода *Penicillium*. Существенным компонентом в данных почвах являются виды рода *Fusarium* - 5 видов. Видовое разнообразие данного рода объясняется тем, что некоторые образцы почв покрыты травянистой растительностью, о чем свидетельствуют также литературные данные [7].

Результаты наших исследований показали, что в почвах весьма неравномерно распределены грибы рода *Trichoderma*. Представители данного рода обильнее всего размножаются в почвах, богатых органическими остатками [8]. Некоторые образцы исследуемых нами почв взяты с пастбищ, где и обнаружен единственный вид *Trichoderma koningii*.

В исследуемых почвах обнаружены также темноокрашенные гифомицеты, что свидетельствует о частичной загрязненности данных образцов.

Следует отметить, что ряд выделенных нами потенциально патогенных видов грибов являются эвритопными. К ним относятся *Aspergillus niger*, *Cladosporium lignicola*, *Fusarium moniliforme*, *Trichoderma koningii*, *Penicillium lanosum*.

Таким образом, нарушение природных условий под влиянием многих антропогенных факторов, в том числе загрязненности отходами медно-молибденового завода может привести к изменению микобиоты почвы, к увеличению потенциально опасных микроскопических грибов в окружающей среде. Эти данные говорят о значимости микромицетов как биоиндикаторов загрязненности почв и возможном использовании комплексов грибов для характеристики особенностей типов почв.

Список литературы

1. Christensen M., Frisvad J.C., Tuthill D.E. *Penicillium* species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes // Integration of modern taxonomic for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. – 2000. – P. 309-320.
2. Терехова В.А., Семёнова Т.А., Полянская Л.М. Микробиотический мониторинг состояния лесных дерново-подзолистых почв // Вестник Моск. ун-та, сер. 16, биология. – 1994. – № 4. С. – 54-59.
3. Matevosyan R.E., Nanagulyan S.G., Eloyan I.M., Yesayan T.A. Study of soil fungi in the territory of Kapan city and their surrounding // Proceedings of the YSU, Chemistry and Biology. – 2018. - 52 (3). - P. 193-197.
4. Пидопличко Н.М., Милько А.А. Атлас мукоральных грибов. – Киев: Наукова думка. – 1971. - 115 с.
5. Билай В.И., Коваль Э. З. Аспергиллы. – Киев: Наукова думка. – 1988. – С. 390.
6. Коваль Э.З., Руденко А.В., Волошук Н.М. Пеницилли. - Киев: ННИРЦУ. – 2016. 407 с.

7. Шералиев А.Ш. Распространение грибов рода *Fusarium* в почвах Чаткальского горнолесного заповедника / А.Ш. Шералиев, К. Бухаров, Ч. Холмурабдов // Микробиол. журн. – 2002. – № 3. – С. 38–41.
8. Александрова А. В. Грибы рода *Trichoderma* Pers.: Fr. Таксономия, географическое распространение и экологические особенности: автореф. дис. ... канд. биол. наук /– М., 2000. – 20 с.

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКСОМИЦЕТАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКАЗНИКА «ГЛЕБОВКА» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ)

Мороз Е.Л.

Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск

Республиканский биологический заказник «Глебовка» создан в 2001 году с целью сохранения уникальных природных комплексов в естественном состоянии. Расположен в Минском районе Минской области. Общая площадь заказника 964 га. На охраняемой территории находятся истоки реки Глебовка. Преобладают дерново-талево-подзолистая и супесчано-суглинистая почвы. Рельеф представлен среднехолмистой возвышенностью. Основная лесобразующая порода – сосна. Реже встречаются можжевельник, береза и ель. Координаты: 53°55'1 «№ 27°49'15»Е.

Материалом для публикации послужили образцы, собранные во время полевых работ в 2019 г. Полевые исследования и сбор образцов спорофоров проводились маршрутным методом в различных биотопах заказника по общепринятым методикам (Новожилов, 1993). Камеральная обработка собранных коллекций проводилась в лаборатории микологии Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси. Микроморфологические структуры спорофоров изучались с помощью микроскопов МБС10, Olympus SZ61, Olympus BX 51. Определение собранных образцов проводили на основании изучения морфологических признаков с использованием отечественных и зарубежных определительных пособий (Martin, Alexopoulos, 1969; Stephenson, Stempen, 2000, Poulain et al., 2011a; 2011b). Названия миксомицетов приведены согласно номенклатурной базе данных миксомицетов Lado (2005–2020).

Гербарные образцы спорофоров хранятся в гербарии лаборатории микологии ГНУ Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (MSK – F).

Ниже приводится аннотированный список миксомицетов, где все таксоны расположены в алфавитном порядке. В аннотации приведены сведения о субстрате, растительной ассоциации, номер гербарного образца.

Arcyria cinerea Bull. Pers. – на гнилой древесине *Betula pendula* Roth., *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* (L.) Karst. и *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., в ельнике сложном, MSK – F 42060.

Arcyria denudata (L.) Wettst. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, в сосняке черничном, MSK – F 42062.

Arcyria ferruginea Saut. – на гнилой древесине *Picea abies*, *Pinus sylvestris* в ельнике сложном, MSK – F 42064.

Arcyria incarnata (Pers.) Pers. – на гнилой древесине *Picea abies*, *Pinus sylvestris* в ельнике сложном, MSK – F 42063.

Arcyria insignis Kalchbr. & Cooke in Kalchbrenner – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42061.

Arcyria obvelata (Oeder) Onsberg – на гнилой древесине *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*, на живых злаковых растениях, в сосняке черничном, MSK – F 42067.

Arcyria oerstedii Rostaf. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, в сосняке черничном, MSK – F 42069.

Arcyria pomiformis (Leers) Rostaf. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42071.

Ceratomyxa fructiculosa (Mull.) Macbr. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, *Betula pendula*, в ельнике сложном, MSK – F 42073.

Comatricha laxa Rostaf. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке зеленомошном.

Comatricha nigra (Pers ex J.F. Gmel.) J. Schröt. – на коре и гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, сосняке зеленомошном, MSK – F 42068.

Comatricha pulchella (C. Bab.) Rostaf. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке черничном, MSK – F 42072.

Cribraria argillacea (Pers. ex J. F. Gmel.) Pers. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в ельнике сложном, MSK – F 42077.

Cribraria aurantiaca Schrad. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке черничном, MSK – F 42074.

Cribraria cancellata (Batsch) Nann.-Bremek. – на гнилой древесине *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, в ельнике сложном, MSK – F 42079.

Cribraria ferruginea Meyl. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке черничном, MSK – F 42081.

Cribraria intricata Schrad. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке зеленомошном, MSK – F 42083.

Cribraria microcarpa (Schrad.) Pers. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42088.

Cribraria rufa (Roth) Rostaf. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, ельнике сложном, MSK – F 42090.

Cribraria tenella Schrad. – на гнилой древесине *Picea abies*, в сосняке зеленомошном, MSK – F 42091.

Cribraria vulgaris Schrad. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в сосняке долгомошном, MSK – F 42094.

Dictydiaethalium plumbeum (Schumach.) Rostaf. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке черничном, MSK – F 42097.

Diderma montanum (Meyl.) Meyl. – на гнилой древесине *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, в ельнике сложном, MSK – F 42098.

Diderma radiatum (L.) Morgan – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42099.

Didymium melanospermum (Pers.) T. Macbr. – на коре и гнилой *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, на мхах, в ельнике сложном, MSK – F 42102.

Didymium nigripes (Link) Fr – на коре и гнилой древесине *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, мхах, в ельнике сложном, MSK – F 42103.

Didymium squamulosum (Alb. & Schwein.) Fr. – на коре *Pinus sylvestris*, опаде листьев, в сосняке черничном, MSK – F 42106.

Enerthenema papillatum (Pers.) Rostaf. – на гнилой древесине *Picea abies*, в ельнике сложном, MSK – F 42110.

Fuligo levidierma H. Neubert, Nowotny & K. Baumann – на коре *Populus tremula* L., *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42113.

Fuligo septica (L.) F. H. Wigg. – на коре и гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, опаде хвои, мхах, живых травянистых растениях, в сосняке черничном, MSK – F 42116.

Hemitrichia clavata (Pers.) Rostaf. – на гнилой коре и древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42119.

Hemitrichia serpula (Scop.) Rostaf. ex Lister – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42123.

Collaria arcyronema (Rostaf.) Nann.-Bremek. ex Lado – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в сосняке зеленомошном, MSK – F 42125.

Leocarpus fragilis (Dicks.) Rostaf. – на коре и гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, опаде хвои, мхах, живых травянистых растениях, в сосняке черничном, MSK – F 42127.

Lepidoderma tigrinum (Schrad.) Rostaf. in Fuckel – на гнилой древесине *Picea abies*, в ельнике сложном, MSK – F 42134.

Licea minima Fr. – на гнилой древесине *Picea abies*, *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42137.

Licea operculata (Wingate) G.W. Martin – на коре *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42139.

Lycogala epidendrum (L.) Fr. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, *Picea abies*, в сосняке черничном, MSK – F 42141.

Metatrichia vesparia (Batsch) Nann.-Bremek. ex G. W. Martin & Alexop. – на коре и гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в сосняке черничном, MSK – F 42142.

Mucilago crustacea F. H. Wigg. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке зеленомошном, MSK – F 42143.

Paradiacheopsis fimbriata (G. Lister & Cran) Hertel ex Nann.-Bremek. – на коре и гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в сосняке черничном, MSK – F 42146.

Perichaena chrysosperma (Curr.) Lister – на коре и гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42147.

Perichaena corticalis (Batsch) Rostaf. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42148.

Perichaena depressa Lib. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке черничном, MSK – F 42150.

Physarum album (Bull.) Chevall. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, мхах, опаде листьев и хвои, в сосняке черничном, MSK – F 42152.

Physarum bivalve Pers. – на опаде хвои, в ельнике сложном, MSK – F 42154.

Physarum globuliferum (Bull.) Pers – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, в сосняке черничном, MSK – F 42156.

Таблица – Таксономическая структура биоты миксомицетов биологического заказника «Глебовка» (в скобках указано число видов)

Порядок	Семейство	Род
<i>Ceratiomycetales</i> (1)	<i>Ceratiomycetaceae</i> (1)	<i>Ceratiomyxa</i> (1)
<i>Liceales</i> (15)	<i>Liceaceae</i> (2)	<i>Licea</i> (2)
	<i>Reticulariaceae</i> (4)	<i>Dictydiaethalium</i> (1) <i>Lycogala</i> (1) <i>Reticularia</i> (1) <i>Tubifera</i> (1)
	<i>Cribrariaceae</i> (9)	<i>Cribraria</i> (9)
<i>Trichiales</i> (20)	<i>Arcyriaceae</i> (8)	<i>Arcyria</i> (8)
	<i>Trichiaceae</i> (12)	<i>Hemitrichia</i> (2) <i>Metatrichia</i> (1) <i>Perichaena</i> (3) <i>Trichia</i> (6)
<i>Stemonitales</i> (9)	<i>Stemonitidaceae</i> (9)	<i>Comatricha</i> (3) <i>Enerthenema</i> (1) <i>Collaria</i> (1) <i>Paradiacheopsis</i> (1) <i>Stemonitis</i> (3)
<i>Physarales</i> (15)	<i>Physaraceae</i> (9)	<i>Fuligo</i> (2) <i>Leocarpus</i> (1) <i>Physarum</i> (6)
	<i>Didymiaceae</i> (6)	<i>Diderma</i> (2) <i>Didymium</i> (3) <i>Mucilago</i> (1)

Physarum leucophaeum Fr. – на коре и гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, в сосняке черничном, MSK – F 42157.

Physarum leucopus Link – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, опаде листьев, в ельнике сложном, MSK – F 42158.

Physarum viride (Bull.) Pers. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, опаде хвои, мхах, в сосняке черничном, MSK – F 42160.

Reticularia lycoperdon Bull. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, опаде листьев и хвои, мхах, в сосняке зеленомошном, MSK – F 42160.

Stemonitis axifera (Bull.) T. Macbr. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, в сосняке зеленомошном, MSK – F 42161.

Stemonitis fusca Roth – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42163.

Stemonitis splendens Rostaf. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42164.

Trichia botrytis (J.F. Gmel.) Pers. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42165.

Trichia contorta (Ditmar) Rostaf. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, в ельнике сложном, MSK – F 42168.

Trichia decipiens (Pers.) T. Macbr. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42169.

Trichia favoginea (Batsch) Pers. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, в ельнике сложном, MSK – F 42170.

Trichia scabra Rostaf. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, в ельнике сложном, MSK – F 42172.

Trichia varia (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers. – на гнилой древесине *Alnus glutinosa*, *Picea abies*, в ельнике сложном, MSK – F 42174.

Tubifera ferruginosa (Batsch) J.F. Gmel. – на гнилой древесине *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, в сосняке черничном, MSK – F 42177.

В результате наших исследований было выявлено 61 вид миксомицетов, относящихся к 23 родам, 9 семействам, 5 порядкам (табл.1).

Наибольшее число выявленных видов относится к порядку Trichiales (20 видов / 32,8% от общего числа). Несколько в меньшей степени представлены в биоте миксомицетов виды порядков Physarales и Liceales (по 15 видов / 24,6%) и Stemonitales (9 видов / 14,8%). Наименьшую долю в спектре видов составляют виды порядка Ceratiomyxales (1 вид / 1,6%).

Лидирующими по родовой насыщенности семействами являются Stemonitidaceae (5 родов / 21,7% от общего числа), Reticulariaceae и Trichiaceae (по 4 / 17,4%), меньшей родовой насыщенностью обладают семейства Physaraceae, Didymiaceae (по 3 / 13%), Ceratiomyxaceae, Cribrariaceae, Arcyriaceae и Liceaceae (по 1 / 4,4%).

Ведущими являются 8 родов: *Cribraria* (9 видов / 14,8% от общего числа), *Arcyria* (8 / 13,1%), *Trichia* и *Physarum* (по 6 / 9,8%), *Perichaena*, *Comatricha*, *Stemonitis* и *Didymium* (по 3 / 4,9%). Они включают 67,2% от всех выявленных видов. К остальным 15 родам относятся 32,8% видов.

Автор благодарит Ю.К. Новожилова за помощь в определении ряда видов.

Список литературы

1. Новожилов Ю. К. 1993. *Класс Миксомицеты. Определитель грибов России: отдел Слизевики; вып 1.* СПб.: 288 с.
2. Martin G. W., Alexopoulos C. J. 1969. *The Mucromycetes.* Iowa City: 561 p.
3. Stephenson S. L., Stempen H. *Mucromycetes: A Handbook of Slime Molds.* Timber Press, Inc. 2000. 183 p.
4. Poulain M., Meyer M., Bozonnet 2011a. *Les Mucromycètes. Tome 1, guide de détermination. mycologique et botanique Dauphiné-Savoie: Sévrier France.* 2011a. 568 p., 15 pl.
5. Poulain M., Meyer M., Bozonnet 2011b. *Les Mucromycètes. Tome 2. Fédération mycologique et botanique Dauphiné-Savoie: Sévrier France.* 2011b. 544 p.
6. Lado C. 2005–2020. *An on line nomenclatural information system of Eumycetozoa.* Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid, Spain. <http://www.nomen.eumycetozoa.com> (Дата обращения: 31 I 2020).

ФЕНОЛОГИЯ ВЕСЕННИХ ГРИБОВ В ПОЛЕВОЙ СЕЗОН 2019 ГОДА

Нагуманов Ш.З.

«Национальный парк «Марий Чодра», п. Красногорский

Национальный парк «Марий Чодра» расположен в юго-восточной части республики Марий Эл. В физико-географическом плане территория национального парка «Марий Чодра» находится на стыке трёх природных зон: южной тайги, хвойно-широколиственных лесов и зоны лесостепи. Здесь находятся границы ареалов многих северных и южных, восточных и западных видов.

Цель данной работы является изучение особенностей плодоношения весенних макромицетов национального парка «Марий Чодра».

С использованием маршрутного метода исследователь прокладывает маршруты с охватом максимальной площади различных лесных фитоценозов парка, для выявления микобиоты искомым видов.

Применяя общепринятую методику геоботанических исследований (Полевой экологический., 2000) определяли типы фитоценозов произрастания макромицетов.

Маршруты прокладывались с учетом погодных-климатических условий, особенностью плодоношения и охва-

Таблица 1 – Таксономический состав весенних грибов национального парка «Марий Чодра»

№	Семейство	Вид грибов
1.	<i>Boletaceae</i>	<i>Leccinum scabrum</i>
2.	<i>Morchellaceae</i>	<i>Verpa bohemica</i> <i>Disciotis venosa</i>
3.	<i>Discinaceae</i>	<i>Gyromitra esculenta</i> <i>Gyromitra gigas</i>
4.	<i>Sarcoscyphaceae</i>	<i>Sarcoscypha coccinea</i>
5.	<i>Lyophyllaceae</i>	<i>Calocybe gambosa</i>
6.	<i>Agaricaceae</i>	<i>Agaricus arvensis</i>
7.	<i>Physalacriaceae</i>	<i>Strobilurus tenacellus</i>

Таблица 2 – Местообитания грибов по типам в лесных фитоценозах национального парка «Марий Чодра»

Тип фитоценоза	Вид грибов								
	<i>Leccinum scabrum</i>	<i>Verpa bohemica</i>	<i>Gyromitra esculenta</i>	<i>Gyromitra gigas</i>	<i>Disciotis venosa</i>	<i>Sarcoscypha coccinea</i>	<i>Calocybe gambosa</i>	<i>Strobilurus tenacellus</i>	<i>Agaricus arvensis</i>
Сосняк разнотравный					*		*	*	
Сосняк зеленомошно-разнотравный								*	
Березняк разнотравный			*	*			*		
Березняк бруснично-осоковый				*					
Осинник липовый разнотравный						*			
Липняк разнотравный		*				*			
Луг разнотравный									*

та различных фитоценозов. Видовой состав, фенология и характер плодоношения макромицетов в значительной степени определяется фитоценотической средой.

В апреле-мае 2019 года на территории национального парка «Марий Чодра» отмечено плодоношение девяти

ти видов грибов (таб.1) : подберезовик обыкновенный (*Leccinum scabrum* (Fr.)S.F.Gray.), сморчковая шапочка (*Verpa bohemica* (Krombh.) Schroet.), строчок обыкновенный (*Gyromitra esculenta* (Pers. : Fr.) Fr.), строчок гигантский (*Gyromitra gigas* Krombh.),блюцезик жилковатый (*Disciotis venosa* (Pers.) Fr.),саркосцифа красная (*Sarcoscypha coccinea* (Scop.) Lambotte), майский гриб (*Calocybe gambosa* (Fr.) Donk), стробилурус черешковый (*Strobilurus tenacellus* (Pers.) Singer.), шампиньон полевой (*Agaricus arvensis* Schaeff.).

Найденные в национальном парке грибы (таб.1) относят к 7 семействам: Boletaceae, Morchellaceae, Discinaceae, Sarcoscyphaceae, Lyophyllaceae, Agaricaceae, Physalacriaceae Наибольшие количество видов отмечено в семействах Morchellaceae, Discinaceae по 2 вида.; по 1 представителю в остальных семействах.

В ходе полевых работ нами были обследованы местообитания весенних грибов в национальном парке «Марий Чодра». Макромицеты (таб. 2) отмечены в семи фитоценозах парка: сосняк разнотравный, сосняк зеленомошно-разнотравный, березняк разнотравный, березняк бруснично-осоковый, осинник липовый разнотравный, липняк разнотравный, луг разнотравный. Наибольшее число грибов найдено в сосняке разнотравном, березняке разнотравном (по 3 вида); в липняке разнотравном (по 2 вида), в остальных фитоценозах по 1 виду.

Самое раннее плодоношение весенних макромицетов на территории национального парка «Марий Чодра» отмечено (таб. 3) 25 апреля, наиболее позднее 25 мая 2019 г. Наибольшее количество видов грибов мы собрали 16 мая 2019 г., по 2 вида 15 мая и 20 мая 2019 г., в остальные даты встречено по 1 виду макромицетов.

Сроки плодоношения весенних грибов в полевой сезон 2019 года на территории национального парка «Марий Чодра» являются средними значениями по результатам многолетних наблюдений (Нагуманов Ш.З., 2014).

Список литературы

1. Полевой экологический практикум / Учебное пособие. – Йошкар-Ола: Мар. гос. университет, 2000. Часть.1. – С.112.
2. Нагуманов Ш.З. Фенология и урожайность съедобных грибов национального парка «Марий Чодра»./ Известия Самарского научного центра РАН, том 16, № 1(4), 2014 – С. 1237-1240.

Таблица 3 – Плодоношения грибов национального парка «Марий Чодра» в апреле-мае 2019 г

Вид грибов	Дата плодоношения грибов							
	25.04	29.04	31.04	06.05	15.05	16.05	20.05	30.05
<i>Leccinum scabrum</i>							*	
<i>Verpa bohemica</i>					*			
<i>Disciotis venosa</i>						*		
<i>Gyromitra esculenta</i>	*			*				
<i>Gyromitra gigas</i>		*			*			
<i>Sarcoscypha coccinea</i>			*					
<i>Calocybe gambosa</i>						*		
<i>Agaricus arvensis</i>						*		*
<i>Strobilurus tenacellus</i>		*						

ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИЕ БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ ЛЕСОВ ЗАПАДНЫХ ПРЕДГОРИЙ ЮЖНОГО УРАЛА

Сафонов М.А.

Оренбургский областной детско-юношеский многопрофильный центр,
ДТ «Кванториум»

Леса предгорий Южного Урала тянутся изреженной полосой вдоль западного макросклона горной страны; ее разрывы и сужения обусловлены антропогенной экспансией травянистой растительности разной степени ксероморфности, формированием обширных безлесных пространств, занятых в настоящее время сельскохозяйственными угодьями. В ходе многолетнего использования этих земель происходило сокращение площадей лесов, снижение доли коренных лесов, обеднение биоразнообразия. Причина особого внимания к этим лесам – реликтовый характер биотических комплексов, так как именно в них во время максимальных оледенений сохранялись теплолюбивые виды растений, животных, грибов, распространявшиеся в межледниковья на Русскую равнину.

История и современное состояние этих лесов отражается на всех компонентах их биоты. Численность и ареалы сохранившихся популяций редких видов растений «пульсируют» [2]; изменяется численность некоторых птиц и животных вследствие гибели или миграции [5].

Исследования базидиальных древоразрушающих грибов лесов предгорий западного макросклона Южного Урала, проведенные в 2007-2019 гг. в широколиственных, мелколиственных лесах и искусственных насаждениях сосны ряда районов Оренбургской области и Башкортостана, показали, что в этих лесах встречается 274 вида грибов, относящихся к 110 родам, 35 семействам и 8 порядкам отдела Basidiomycota. Наиболее многочисленны представители порядка Agaricales.

Подавляющее большинство этих видов являются сапротрофами, преимущественно заселяющими валевную древесину мелкой и средней фракций. Большинство видов (76) было отмечено на древесине березы; несколько меньше на вязах (41). В микобиоте сосны отмечено 59 видов. Столь значительное разнообразие микобиоты искусственных сосняков обусловлено значительным возрастом этих насаждений, что определяет большое количества субстрата, пригодного для заселения древоразрушающими грибами [4].

Особый интерес представляет оценка раритетной фракции микобиоты предгорных лесов, поскольку наличие таких видов определяет их ценность, как резерватов биоразнообразия региона. Виды, представленные единичными или малочисленными находками, составляют 34,5% от общей численности видов биоты древоразрушающих базидиальных грибов Южного Приуралья [1]. Причины малочисленности этих видов – краеаральность, реликтовость, малая численность популяций вида на всем протяжении ареала, адвентивность.

К видам, предположительно находящимся на границе ареала, могут быть отнесены *Cellulariella warnieri* (Durieu & Mont.) Zmitr. & V. Malysheva, *Fomitoporia pseudopunctata* (A. David, Dequatre & Fiasson) Fiasson, *Phellinus rhamnii* (Bondartseva) H. Jahn, *Phellinus rimosus* (Berk.) Pilat, *Polyporus ciliates* Fr., *Polyporus tuberaster* (Jack. ex Pers.) Fr., *Tyromyces chioneus* (Fr.) P. Karst..

Реликтовую фракцию в лесах предгорий Урала представляют *Favolus pseudobetulinus* (Murashk. ex Pilát) Sotome & T. Hatt., *Sarcodontia spumea* (Sowerby) Spirin, *Trametes ljubarskyi* Pilat, для которых характерна существенная дизъюнкция палеоареала.

Некоторые виды представлены немногочисленными популяциями на всей территории ареала, вероятно из-за особенностей своей биологии и экологии: *Ischnoderma resinosum* (Schrad.: Fr.) P. Karst., *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murril, *Postia guttulata* (Sacc.) Julich, *Trametes suaveolens* (L.) Fr., *Tyromyces fumidiceps* G. F. Atk., *T. kmetii* (Bres.) Bondartsev & Singer и др.

Адвентивия грибов в районе исследований связана, в первую очередь, с искусственными насаждениями сосны, которые являются нетипичными для современного облика территории. Многие из видов, обнаруженных в сосняках, представлены единичными экземплярами и не встречаются в сосновых лесах естественного происхождения на близлежащих территориях [3]; это, в частности, виды родов *Amylocorticium*, *Antrodia*, *Postia*, *Phlebia*, *Tubulicrinis* и др.

Работы по поддержанию состояния лесов предгорий посредством рубок ухода, контроля антропогенной нагрузки, лесовосстановления должны сопровождаться мониторингом всего комплекса организмов-силвантов, поскольку сохранение и восстановление этих экосистем возможно лишь на условии системного подхода.

Список литературы

1. Сафонов М.А. К вопросу о статусе малочисленных видов грибов в микобиоте // *Проблемы лесной фитопатологии и микологии: материалы X международной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения д.б.н. Виталия Ивановича Крутова, Петрозаводск, 15-19 октября 2018 г.* / Карельский научный центр РАН, Институт леса КарНЦ РАН, Институт лесоведения РАН, Научный совет РАН по лесу, РФФИ. — Петрозаводск : КарНЦ РАН, 2018. — С.165-168
2. Сафонов М.А. Тренды популяций некоторых редких видов флоры предгорий Южного Урала (Оренбургская область) // Самарский научный вестник. 2019. Т.8. № 1(26). С. 99-105. DOI 10.24411/2309-4370-2019-11117
3. Сафонов М.А., Маленкова А.С. Новые находки древоразрушающих грибов на древесине сосны в Южном Предуралья // *Вестник Оренбургского Государственного Педагогического Университета*. – Электронный научный журнал (Online). 2013. №4 (8). – С.27-33
4. Сафонов М.А., Маленкова А.С., Русаков А.В., Ленева Е.А. Биота искусственных лесов Оренбургского Предуралья. – Оренбург: ООО «Университет», 2013. 176 с.
5. Экологическая среда и биоразнообразие Оренбуржья в XXI веке: прогноз изменений и стратегия выживания. – колл. монография под ред. А.В. Давыгоры. – Оренбург: ООО ИПК «Университет», 2017. 196 с.

ИМЕЕТСЯ ЛИ СВЯЗЬ МЕЖДУ ВИДОВЫМ БОГАТСТВОМ ГРИБОВ И СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ В КОНТИНЕНТАЛЬНОМ МАСШТАБЕ?

Ширяев А.Г.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

Вопрос изучения связи разнообразия растений и грибов в континентальном масштабе имеет несколько аспектов. Одним из важнейших является выбор единиц сравнения, которые в наиболее адекватной форме отражали бы как биотическую составляющую, так и факторы среды. В связи с этим, как нам кажется, наиболее подходящим при исследовании пространственной дифференциации растительного покрова является использование локальных флор (ЛФ), а для грибов – выявление видового состава для стандартной площади, схожей по размеру с локальными флорами. В связи с чем, нами разработан метод отбора локалитетов (каждый площадью 100 км²) и унифицированный способ сбора информации по видовому богатству модельной группы – клавариоидные грибы (локалитеты клавариоидных грибов - ЛКГ). Это позволило сопоставить богатство сосудистых растений и грибов в конкретных локалитетах, что впервые позволило протестировать гипотезу о том, что богатство флоры определяет богатство микобиоты. Изучалась территория Восточной Европы.

Результаты исследования свидетельствуют, что гипотеза подтвердилась лишь частично. Среди различий в принципах распределения двух изучаемых групп стоит отметить несовпадение пиков: для ЛФ максимум выявлен в лесостепи, а также широколиственных и степных районах, тогда как в ЛКГ – от среднетаежных до подтаежных лесов. Корреляция между богатством ЛФ и ЛКГ положительная достоверная, при этом богатейшие ЛКГ (более 60 видов) соответствуют ЛФ со средним уровнем видового богатства (числом видов от 360 до 850). С уменьшением числа видов в ЛФ, а также с ростом от этих показателей – видовое богатство в ЛКГ снижается. Но есть и сходство – беднейшие ЛФ и ЛКГ выявлены в тундровых и пустынно-степных пессимальных условиях, а богатейшие (для ЛФ – более 1100 видов, а для ЛКГ – более 80) соответствуют горным районам, обрамляющим Восточно-Европейскую равнину. Установлена немонотонная унимодальная форма связи между разнообразием древесных растений и грибов: богатейшие ЛКГ выявлены в среднем диапазоне

видового богатства древесных в ЛФ, тогда как в ЛФ с максимальным числом видов древесных растений грибов оказывалось меньше. Схожая немонотонная унимодальная зависимость между богатством ЛФ и ЛКГ выявлена для площади лесопокрываемой территории, первичной продукции, запасом надземной фитомассы и мортмассой. Самые богатые равнинные ЛФ выявлены на богатейших зональных черноземных почвах (10% гумуса и более), тогда как самые богатые ЛКГ соответствуют среднему уровню богатства зональных почв (3-6% гумуса). Для видового богатства ЛФ выявлена сильная корреляция со среднегодовой температурой, а для ЛКГ – таковой нет. Для этого параметра характерна немонотонная унимодальная зависимость с пиком в средних показателях для ЛКГ. С гидротермическим коэффициентом не выявлена связь с ЛКГ, тогда как с ЛФ она существует.

В общем, частичное несоответствие, а иногда и разнонаправленные тренды пространственного распределения видового богатства грибов и сосудистых растений также показаны на примере Китая и Европы. Можно констатировать, что, вероятно, достоверность тестируемой гипотезы изменяется с размером изученной территории: для небольших участков Арктики или таежных районов России установлено большое число факторов, одинаково определяющих видовое богатство грибов и растений, для всей Восточной Европы – больше половины факторов по-разному связаны с актуальным разнообразием двух изучаемых групп биоты. В глобальном масштабе, для протестированных факторов, схожая реакция микобиоты и растительного покрова не выявлена. Можно констатировать, что для сосудистых растений свойственен широтный градиент, а для клавариоидных грибов пик наблюдается в средних частях долготной и экологической шкал. Это подтверждает блочный характер биоты и действие различных механизмов в пространственной дифференциации биоты в разных масштабах.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 18-05-00398).

НОВАЯ НАХОДКА ВЕСЕЛКИ АДРИАНА (*PHALLUS HADRIANI* PERS.) – РЕДКОГО ВИДА ГАСТЕРОМИЦЕТОВ ДЛЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Шумкова О.А., Криворотов С.Б.

¹ НИИ прикладной и экспериментальной экологии КубГАУ, Краснодар

² Кубанский государственный университет, Краснодар

Исследования проводились в окрестностях г. Тимашевска Тимашевского района Краснодарского края. По геоботаническому районированию этот район относится к Евразийской области степей Восточно-Европейской провинции Азово-Кубанскому округу Центральному степному району (Атлас, 1996). Степная растительность ранее, покрывавшая всю северную часть края, в настоящее время почти полностью уничтожена. Сохранилась она лишь вдоль дорог, рек, балок и оврагов, около лесных полос, в местах непригодных для сельскохозяйственного использования (Тильба, 1981). Территория, на которой обнаружены особи охраняемого вида веселки, занята под сельскохозяйственные культуры.

Район исследования относится к II району по агроклиматическому районированию, недостаточно увлажнен, коэффициент влажности 0,25–0,30. За год выпадает 500–600 мм осадков. Средняя месячная температура января -4,0, -2,5 °С, минимальная температура -30, -36 °С. Лето жаркое, с преобладанием ясной и сухой погоды. Средняя месячная температура июля 22–24 °С, максимальная может повышаться до 38–40 °С (Агроклиматические ресурсы ..., 1975).

Материалом для исследования послужили виды грибов веселки Адриана (*Phallus hadriani* Pers.) в количестве 23 экземпляров. Полевые исследования проводились в сентябре – октябре 2019 г. маршрутным методом.

При проведении исследований использовались методики, изложенные в работах Е.И. Коваленко и др. (1978), Ф.А. Мусаева и др. (2014), А.А. Сопиной (2001; 2004), Ф.В. Федорова (1994), В. Черновола (2004). При описании растительного покрова использовались общепринятые геоботанические методики (Воронов, 1973).

В окрестностях г. Тимашевск Краснодарского края было обнаружено большое количество плодовых тел веселки Адриана. Максимальная численность на площади 25 кв.м составила 300 экземпляров. Эту находку веселки Адриана можно считать уникальной.

Плодовые тела веселки обнаружены на перепаханном поле, на котором ранее возделывалась полевая культура кукуруза (*Zea mays* L.). Рядом расположена лесозащитная полоса, состоящая из тополя черного (*Populus nigra* L.), к которому примешивается робиния ложноакация (*Robinia pseudoacacia* L.). В подлеске произрастают боярышник (*Crataegus monogyna* L.), бирючина обыкновенная (*Ligustrum vulgare* L.), шиповник собачий (*Rosa canina* L.). Работы по уходу за насаждениями не проводятся.

Веселка Адриана (*Phallus hadriani* Pers.) занесена в Красную книгу Краснодарского края (2017) с категорией 3 УВ «Уязвимый». Единичные находки ранее отмечены на территории учебного Ботанического сада КубГУ и на территории ООПТ «Успенские Солёные озера» (Красная книга..., 2017; Шумкова, Криворотов, 2017). Вид в основном встречается единичными особями, редко по 2–3 экземпляра.

Результаты данного исследования могут быть использованы при проведении работ по ведению Красной книги Краснодарского края, а также при организации мониторинга макромицетов региона.

Список литературы

1. Атлас. Краснодарский край. Республика Адыгея. Минск, 1996.
2. Тильба А.П. Растительность Краснодарского края: учебное пособие. Краснодар, 1981.
3. Агроклиматические ресурсы Краснодарского края, Л., 1975.
4. Коваленко Е.И., Коваленко Н.Н., Коваленко А. Е. Съедобные и ядовитые грибы Кубани. Краснодар, 1978.
5. Мусаев Ф.А., Захарова О.А., Морозова Н.И., Мусаева Р.Ф. Лекарственные, съедобные, условно-съедобные, ядовитые, охраняемые грибы: учебное пособие. Рязань, 2014.
6. Сопина А.А. Агарикоидные базидиомицеты горных лесов бассейна р. Белой (Северо-Западный Кавказ): автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2001.
7. Сопина А.А. Материалы к биоте агарикоидных базидиомицетов высокогорий Северо-Западного Кавказа // Микология и фитопатология. 2004. Т.38 №1. С. 70–76.
8. Федоров Ф.В. Грибы. М., 1994.
9. Черновол В. Грибное очарование лесов Кубани. Краснодар–Туапсе, 2004.
10. Воронов А.Г. Геоботаника. М., 1973.
11. Красная книга Краснодарского края. Растения и грибы; изд. 3 / отв. ред. С.А. Литвинская. Краснодар, 2017.
12. Шумкова О.А., Криворотов С.Б. К изучению распространения редких и охраняемых видов макромицетов семейств Phallaceae и Clathraceae на Северо-Западном Кавказе // IV съезд микологов России. М., 2017. С. 150.

РЕВИЗИЯ ВИДОВОГО СОСТАВА ООМИЦЕТОВ В ЗАИЛИЙСКОМ АЛАТАУ

Сытабеккызы Г.^{1,2}, Рахимова Е.В.^{1,2}, Асылбек А.М.², Ермакова Б.Д.², Кызметова Л.А.²,¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби,²РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КЛИЖМ МЭГПР РК, Алматы, Казахстан

Оомицеты (Oomycetes) – небольшой класс грибоподобных организмов (царство Chromista), характеризующихся наличием подвижных спор и ведущих как сапрофитный, так и паразитический образ жизни. Большинство паразитных оомицетов поражают дикие и культурные растения, вызывая такие вредоносные болезни, как фитофтороз, ложная мучнистая роса (пероноспороз, мильдью), белая ржавчина. Оомицеты поселяются на представителях многих семейств сосудистых растений, но особенно сильно поражаются виды семейства *Brassicaceae* (Крестоцветные или Капустные).

Первые данные об оомицетах в Заилийском Алатау приводятся Б.К. Калымбетовым [1]. На территории хребта выявлено 67 видов оомицетов. Данные многолетних микологических исследований обобщены в X томе сводки Флора споровых растений Казахстана [2]. По данным авторов на территории Казахстана встречаются 123 вида оомицетов. Однако, в настоящее время систематика этого класса грибоподобных организмов претерпела значительные изменения [3]. Поэтому, крайне необходимой стала ревизия видового состава оомицетов в Заилийском Алатау.

В основу предлагаемой статьи положены как литературные данные, так и собственные сборы авторов, выполненные во время реализации научно-целевой программы BR05236546 «Реализация Государственными ботаническими садами приоритетных для Казахстана научно-практических задач Глобальной стратегии сохранения растений как устойчивой системы поддержания биоразнообразия».

Согласно современной систематике, в настоящее время класс Oomycetes в Заилийском Алатау представлен двумя подклассами. Из подкласса Albuginomycetidae обнаружено 4 вида из 3 родов, относящихся к семейству *Albuginaceae*, порядку Albuginales (табл. 1). Наиболее часто встречается *Albugo candida* (Pers.) Roussel на 13 различных представителях семейства *Brassicaceae*, несколько реже – *Pustula tragopogonis* (Pers.) Thines на 5 представителях семейства *Asteraceae*. *Wilsoniana bliti* (Biv.) Thines отмечен только на *Amaranthus retroflexus* L., в то время, как *Wilsoniana portulacae* (DC.) Thines обнаружена на *Portulaca oleracea* L.

Подкласс Peronosporomycetidae представлен 21 видом из 4 родов, относящихся к семейству *Peronosporaceae*, порядку Peronosporales.

На территории Заилийского Алатау зарегистрировано 6 видов рода *Hyaloperonospora*: *H. barbareae* (Gäum.) Göker, Riethm., Voglmayr, Weiss & Oberw. на *Barbarea vulgaris* R. Br., *H. berteroae* (Gäum.) Göker, Riethm., Voglmayr, Weiss & Oberw. на *Berteroa incana* (L.) DC., *H. camelinae* (Gäum.) Göker на *Camelina microcarpa* Andrz., *H. isatidis* (Gäum.) Göker, Riethm., Voglmayr, Weiss & Oberw. на *Isatis costata* C.A. Mey. и *I. tinctoria* L., *H. parasitica* (Pers.) Constant. на *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medikus, *H. thlaspeos-perfoliati* (Gäum.) Göker на *Microthlaspi perfoliatum* (L.) F.K. Mey.

Род *Peronospora* представлен 11 видами: *Peronospora arenariae* (Berk.) Tul. на *Moehringia trinervia* (L.) Clairv., *P. corydalis* de Bary на *Corydalis capnoides* (L.) Pers., *P. crustosa* (Fr.) Fr. (*Plasmopara nivea* (Unger) J. Schröt., *P. aegopodii* (Casp.) Trotter.) на *Aegopodium alpestre* Ledeb., на *Aegopodium podagraria* L., *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. subsp. *nemorosa* (M. Bieb.) Trautv., *Bunium setaceum* (Schrenk) H. Wolff., *P. desertorum* Jacz. на *Alyssum turkestanicum* Regel & Schmalh. var. *desertorum* (Stapf) Botsch., *P. destructor* (Berk.) Casp. ex Berk. на *Allium* sp., *P. farinosa* (Fr.) Fr. на *Chenopodium album* L. и *Salsola orientalis* S.G. Gmel. Наиболее часто встречается *Peronospora crustosa*.

На территории Заилийского Алатау обнаружено три вида рода *Plasmopara*: *P. asterea* Novot. на *Heteropappus altaicus* (Willd.) Novopokr., *P. obducens* (J. Schröt.) J. Schröt. на *Impatiens parviflora* DC. и *P. pusilla* (de Bary) J. Schröt. на *Geranium collinum* Steph., *G. pratense* L., *G. rectum* Trautv., *G. transversale* (Kar. & Kir.) Vved. и *Geranium* sp. Вид *P. pusilla* встречается особенно часто.

Род *Plasmoverna* представлен одним видом *P. pygmaea* (Unger) Constant., Voglmayr, Fatehi & Thines на *Delphinium iliense* Huth.

Что касается распределения оомицетов по территории Заилийского Алатау, то максимальное количество видов отмечено в предгорьях и Малом Алматинском ущелье (табл. 2), минимальное – в ущелье Иссык.

Наибольшее количество видов оомицетов отмечено на представителях семейства *Brassicaceae* (9 видов), несколько меньше – на *Ranunculaceae* (3 вида),

Таблица 1 – Таксономическая структура класса Oomycetes в Заилийском Алатау

Подкласс	Порядок	Семейство	Род	Число видов
Albuginomycetidae	Albuginales	<i>Albuginaceae</i>	<i>Albugo</i>	1
			<i>Pustula</i>	1
			<i>Wilsoniana</i>	2
Peronosporomycetidae	Peronosporales	<i>Peronosporaceae</i>	<i>Hyaloperonospora</i>	6
			<i>Peronospora</i>	11
			<i>Plasmopara</i>	3
			<i>Plasmoverna</i>	1

Таблица 2 – Распределение представителей класса Oomycetes в Заилийском Алатау

Вид грибов	Пр	Кн	Чем	Кк	Тур	МАУ	Тал	Ис	БАУ
<i>Albugo candida</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>Hyaloperonospora barbareae</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. berteroae</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. camelinae</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>H. isatidis</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. parasitica</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-
<i>H. thlaspeos-perfoliati</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peronospora arenariae</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>P. corydalis</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>P. crustosa</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	+
<i>P. desertorum</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. destructor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>P. farinosa</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. hiemalis</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>P. illyrica</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>P. lamii</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>P. malcolmiae</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. ziziphorae</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Plasmopara asterea</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. obducens</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>P. pusilla</i>	-	+	+	-	-	+	+	+	+
<i>Plasmoverna pygmaea</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Pustula tragopogonis</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Wilsoniana bliti</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>W. portulacae</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Итого	11	3	6	2	4	12	2	1	4

Пр – Проходное ущелье, Кн – Каскелен, Чем – Чемолган, Кк – Кастек, Тур – Турген, МАУ – Малое Алматинское ущелье, Тал – Талгар, Ис – Иссык, БАУ – Большое Алматинское ущелье

Lamiaceae (2 вида), *Asteraceae* (2 вида). На представителях семейств *Fumariaceae*, *Amaranthaceae*, *Portulacaceae*, *Caryophyllaceae*, *Ariaceae*, *Alliaceae*, *Chenopodiaceae*, *Balsaminaceae* и *Geraniaceae* зарегистрировано по одному виду оомицетов.

Таким образом, на территории Заилийского Алатау обнаружено 25 видов оомицетов из 7 родов, 2 семейств, 2 порядков и 2 подклассов. Максимальное количество видов отмечено в предгорьях Заилийского Алатау Малом Алматинском ущелье.

Список литературы

1. Калымбетов Б.К. Микологическая флора Заилийского Алатау (Северный Тянь-Шань). – Алма-Ата, 1969. – 470 с.
2. Васягина М.П., Бызова З.М., Головенко И.Н. Флора споровых растений Казахстана. Низшие грибы и миксомицеты. – Алма-Ата, 1977. – Том 10. – 348 с.
3. Beakes G.W., Honda D., Thines M. Systematics of the Straminipila: Labyrinthulomycota, Hyphochytridiomycota and Oomycota. In: Systematics and evolution, 2014 – P. 39-97.

Глава 4. Экология грибов

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.04

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ НА КОСМИЧЕСКИХ СТАНЦИЯХ И ИХ ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ

Алехова Т.А.¹, Александрова А.В.¹, Осмоловский А.А.¹, Тиморшина С.Н.¹,

Гесслер Н.Н.², Новожилова Т.Ю.¹, Загустина Н.А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

²Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

В рамках «Долгосрочной программы научно-прикладных исследований и экспериментов, на российском сегменте МКС» проводится эксперимент «Начальные этапы биодegradации и биоповреждений в условиях космоса (Биодegradация)». Он продолжает мониторинговые исследования, начатые еще на станции Мир, и рассчитан на весь период эксплуатации МКС. Его цель — контроль микробиологической обстановки и разработка методов обеспечения биобезопасности герметизированных обитаемых аппаратов [1].

Микроскопические грибы заселяют все среды обитания, в том числе и техногенные, сопровождая человека повсюду, они обходят предохранительные меры и проникают на космические корабли с грузами и экипажем [2]. Условия для развития и доступные субстраты на орбитальных станциях близки к таковым в помещениях на Земле, но на них, воздействуют факторы космического полета. Штаммы микроорганизмов, выделенные из подобных местообитаний, становятся объектами генетических, физиологических и биохимических исследований [3,4].

На орбитальных станциях при длительных полетах неизбежно накапливаются микроорганизмы [5,6]. Группа грибов, приспособленных к антропогенным местообитаниям, технофильные микромицеты, включает широко распространенные виды, способные развиваться на полимерных субстратах в условиях невысокой влажности, часто они являются агентами биоповреждений и могут оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье людей [7,8].

В ходе проведения многолетнего (2002–2020гг.) эксперимента на Российском сегменте МКС было выявлено 54 вида микроскопических грибов, относящихся к 18 родам. Все они являются широко распространенными и, как правило, сопутствующими человеку в жилых и рабочих помещениях, связаны с продуктами и техническими материалами. На орбитальной станции Мир перед ее затоплением, после 15 лет эксплуатации, выявлено 15 видов. Выделение микромицетов осуществляли стандартным методом посева на твердые питательные среды.

Все выявленные микроскопические грибы относились к отделу Ascomycota (анаморфные формы). Среди них преобладали представители родов *Penicillium* (18 видов) и *Aspergillus* (12 видов). Самыми частыми

являются мицелиальный гриб *Penicillium chrysogenum* и дрожжевой гриб *Rhodotorula* sp. Регулярно выделяются *A. niger*, *Aspergillus sydowii*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. expansum*, *P. spinulosum* и *Ulocladium botrytis*, остальные виды отмечали эпизодически. На станции Мир обнаружены 8 из вышеперечисленных (кроме *Penicillium spinulosum* и *Ulocladium botrytis*), а также там были выявлены: *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. commune*, *P. glandicola*, *P. viridicatum* (все они отмечены и на РС МКС). Эти наиболее обычные грибы составляют «ядро» микобиоты станции, они относятся к группе технофилов и способны образовывать органические кислоты. Кроме того, представители рода *Aspergillus*, и многие виды из рода *Penicillium* являются токсинообразователями и условными патогенами.

Видовое разнообразие и количественные характеристики микобиоты на РС МКС меняется волнообразно. Можно предположить, что заселение станции происходит регулярно с прибывающими грузами и экипажем, но остаются только те виды, которые находят для себя подходящие условия и местообитания.

В результате работ сформирована коллекция чистых культур микроскопических грибов, выделенных с конструкционных поверхностей станции Мир и РС МКС на разных сроках эксплуатации [9]. Также в нее включены культуры аналогичных видов, выделенные из природных местообитаний, используемые для сравнительных исследований.

Получены данные о протеолитической активности наиболее типичных для РС МКС видов микромицетов и их земных аналогов (табл. 1, рис. 1), в том числе выявленных на стартовом комплексе космодрома Куру. Наибольшей активностью обладали: *Aspergillus ustus* (два земных штамма из России и с космодрома Куру, и один с Европейского сегмента МКС), *A. sydowii* (три штамма с МКС из Российского и Европейского модулей), *Cladosporium sphaerospermum* (почти все штаммы, наиболее активен земной), *Penicillium aurantiogriseum* (земной штамм), *P. chrysogenum* (штамм с МКС), *P. expansum* (штамм со станции Мир и Куру). Вариация уровня протеолитической активности изученных штаммов достаточно велика и не зависит от их происхождения.

Изучена активность ферментов каталазы (табл. 2, рис. 2а) и супероксиддисмутазы (СОД) (табл. 3, рис.

Таблица 1 – Протеолитическая активность технофильных штаммов микроскопических грибов с космических станций Мир и МКС и их земных аналогов

Вид	Происхождение штамма							
	Мир	МКС 2003	МКС 2011	МКС 2018	МКС Европейский модуль	Россия 1	Россия 2	Космодром Куру
<i>Aspergillus flavus</i>	1,30		1,04	1,35		1,08	1,13	
<i>A. chevalieri</i>	1,10	1,09	1,00					
<i>A. ustus</i>					1,62	1,64	1,39	1,72
<i>A. niger</i>		1,00	1,03	1,02		1,00	1,00	1,01
<i>A. sydowii</i>	1,39	1,44	2,15	2,00	1,88	1,15	1,52	
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>		1,66	1,74			1,69	1,90	
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	1,10	1,50	1,42	1,24	1,20	1,19	1,87	
<i>P. chrysogenum</i>	1,45	1,78	1,50	1,13	1,15	1,44	1,19	
<i>P. digitatum</i>		1,44	1,46	1,22		1,20		
<i>P. expansum</i>	1,65			1,10	1,50	1,31	1,15	1,54
<i>P. spinulosum</i>	1,22	1,50	1,20	1,50		1,25	1,50	
<i>Ulocladium botrytis</i>		1,00	1,00	1,08		1,00	1,00	
<i>Paecilomyces variotii</i>			1,00			1,00	1,00	
<i>Chaetomium globosum</i>		1,00				1,00	1,00	

Рисунок 1 — Протеолитическая активность технофильных штаммов микроскопических грибов с космических станций Мир и МКС и их земных аналогов

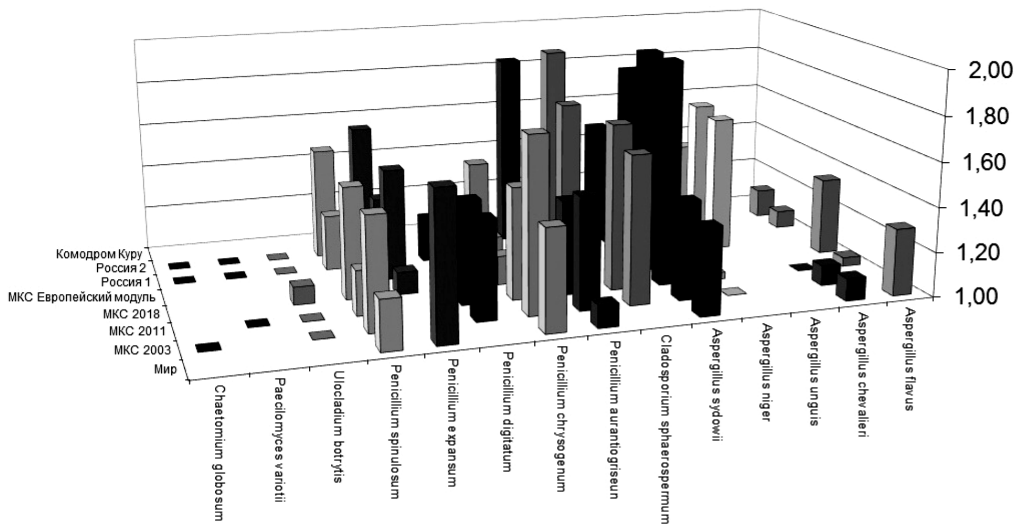


Рисунок 2 — Активность ферментов (А) каталазы (мкмоль/мин/мг белка) и (Б) супероксид-дисмутазы (ед/мг белка) технофильных штаммов микроскопических грибов с космических станций Мир и МКС и их земных аналогов

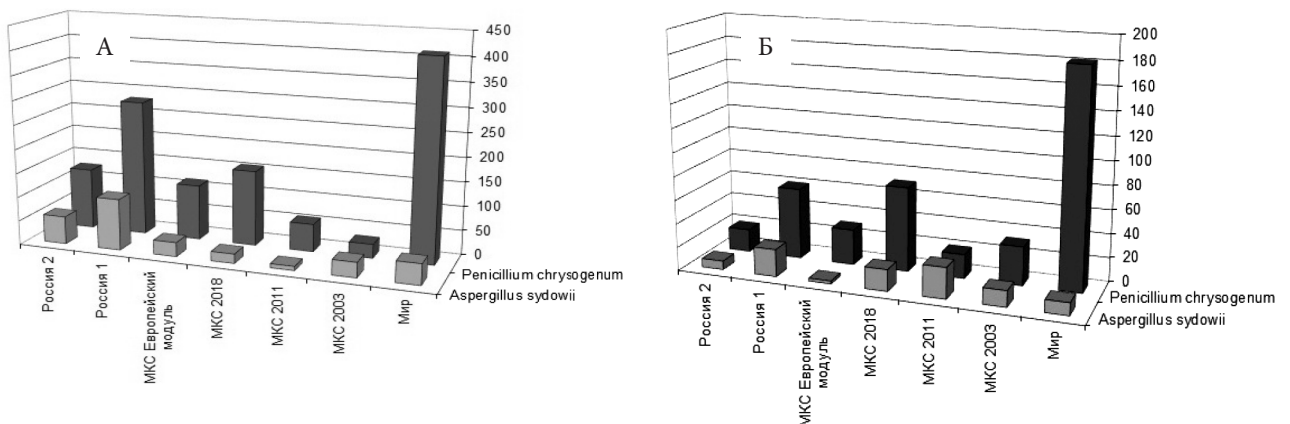


Таблица 2 – Активность фермента каталазы (мкмоль/мин/мг белка) технофильных штаммов микроскопических грибов с космических станций Мир и МКС и их земных аналогов

Вид	Происхождение штамма						
	Мир	МКС 2003	МКС 2011	МКС 2018	МКС Европейский модуль	Россия 1	Россия 2
<i>Aspergillus sydowii</i>	43,1±5,1	31,3±3,3	8,5±1,3	19,4±1,7	29,2±1,4	106,1±2,3	57,3±3,7
<i>Penicillium chrysogenum</i>	411,1±18	28,9±1,4	57,2±9,1	155,9±17,6	114,1±10,5	280,0±27,5	126,3±1,05

26) у штаммов двух наиболее обычных видов микроорганизмов для РС МКС и их земных аналогов. Более высокие показатели по обоим ферментам показаны для *Penicillium chrysogenum*, несколько ниже для *Aspergillus sydowii*. Наибольшие значения активности обоих ферментов были у штамма *P. chrysogenum*, выделенного со станции Мир. Закономерных отличий ферментативной активности каталазы и супероксиддисмутазы в связи с происхождением штаммов, как и для протеолитической способности, не было выявлено.

Каких-либо закономерностей распределения штаммов технофильных грибов по активности изученных ферментов в зависимости от их происхождения не отмечено. Штаммы микроскопических грибов, освоившие конструкционные материалы и поверхности внутри РС МКС не проявляют заметных отличий от своих аналогов их наземных местообитаний, к аналогичные выводы были сделаны и в отношении бактериальных культур [10].

Работа была поддержана грантом МГУ имени М.В. Ломоносова для поддержки ведущих научных школ МГУ «Депозитарий живых систем Московского университета» в рамках Программы развития МГУ.

Список литературы

- Алехова Т.А., Александрова А.В., Загустина Н.А., Лысак Л.В., Новожилова Т.Ю., Борисов В.А., Плотников А.Д. Космический эксперимент «Начальные этапы биодegradации в условиях космоса» с использованием укладки «Биопробы» на РС МКС // Космонавтика и ракетостроение. 2007. Т. 49, № 4. С. 108–117.
- Blachowicz A., Venkateswaran K., Wang C.C. Persistence of Fungi in Atypical, Closed Environments: Cultivation to Omics // *Methods in Microbiology*. — Academic Press, 2018. — Т. 45. — С. 67–86.
- Romsdahl J., Blachowicz A., Chiang A.J., Chiang Y.M., Masonjones S., Yaegashi J., et al. International Space Station conditions alter genomics, proteomics, and metabolomics in *Aspergillus nidulans* // *Applied microbiology and biotechnology*. — 2019. — Т. 103. — № 3. — С. 1363–1377.
- Blachowicz A., Chiang A.J., Romsdahl J., Kalkum M., Wang C.C., Venkateswaran K. Proteomic characterization of *Aspergillus fumigatus* isolated from air and surfaces of the International Space Station // *Fungal genetics and biology*. — 2019. — Т. 124. — С. 39–46.
- Викторов А.Н., Новикова Н.Д., Дешевая Е.А., Поликарпова Н.А., Поддубко С.В., Брагина М.П. Сравнительная оценка биологических свойств микроорганизмов, выделенных в орбитальном комплексе «Мир» в различные сроки эксплуатации // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. — 1998. — Т. 32, № 2. — С. 61–68.
- Novikova N, De Boever P., Poddubko S., Deshevaya E., Polikarpov N., Rakova N., et al. Survey of environmental biocontamination on board the International Space Station // *Research in microbiology*. — 2006. — Т. 157. — № 1. — С. 5–12.
- Venkateswaran K., Vaishampayan P., Cisneros J., Pierson D.L., Rogers S.O., Perry J. International Space Station environmental microbiome—microbial inventories of ISS filter debris // *Applied microbiology and biotechnology*. — 2014. — Т. 98. — № 14. — С. 6453–6466.
- Gu J. D. Microbial colonization of polymeric materials for space applications and mechanisms of biodeterioration: a review // *International biodeterioration & biodegradation*. — 2007. — Т. 59. — № 3. — С. 170–179.
- Алехова Т.А., Александрова А.В., Загустина Н.А., Новожилова Т.Ю., Романов С.Ю. Микроскопические грибы на российском сегменте международной космической станции // *Микология и фитопатология*. — 2009. — Т. 43, Вып. 5. — С. 9–19.
- Mora M., Wink L., Kögler I., Mahnert A., Rettberg P., Schwendner P., et al. The International Space Station selects for microorganisms adapted to the extreme environment, but does not induce genomic and physiological changes relevant for human health // *bioRxiv. Nature communications*. — 2019. — Vol. 10, no. 1. — P. 1–18 (533752).

ПСИХРОТОЛЕРАНТНЫЕ ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ПРИ САМОЛЕТНОМ ЗОНДИРОВАНИИ АТМОСФЕРЫ НАД ВАСЮГАНСКИМИ БОЛОТАМИ

Андреева И.С., Сафатов А.С., Соловьянова Н.А., *Жиравская Е.В., Пучкова Л.И.,
Буряк Г.А., Охлопкова О.В.

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово;
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Васюганские болота, площадью свыше 52 тыс. км², располагаются в центральной части Западной Сибири в пограничных районах Томской, Новосибирской, Омской областей и Ханты-Мансийского автономного округа (координаты: широта: 57°34'0.00»N; долгота: 75°39'23»E), являются уникальными по составу природных комплексов, чрезвычайной сложности ландшафтной структуры, представлены большим разнообразием низинных, переходных и верховых болот на разных стадиях развития, различных по характеру растительности, особенностям микрорельефа поверхности и строению торфяной залежи [1]. Болотный торф, удерживая значительные объемы пресной воды, регулирует водный режим местности, поглощает токсичные вещества, связывает углерод, обогащая таким образом атмосферный воздух кислородом, обеспечивает экологическое равновесие в биосфере.

Функциональные особенности и разнообразие микробиоты Васюганских болот, интенсивность происходящих микробиологических процессов активно изучаются. Большое внимание уделено исследованию таксономического состава микробиоты торфяников, участию микробных сообществ в трансформации соединений углерода в болотных почвах, распределению микробной биомассы и ее функции в торфяниках разного типа [2–5].

Микробиота атмосферного воздуха многокомпонентна по своему составу. Численность и разнообразие входящих в ее состав микроорганизмов зависит от многих факторов, в том числе от движения восходящих вертикальных потоков воздушной среды определенной местности, несущих частицы почвы, остатков тканей растений, насекомых, животных, других компонентов, контаминированных микроорганизмами. Атмосферные аэрозоли ответственны за перенос входящих в их состав биоматериалов между различными экосистемами. В результате горизонтальных движений слоев атмосферного воздуха численность и состав микроорганизмов, характерные для конкретного местообитания, могут быть изменены самым непредсказуемым образом. Микробиота атмосферного воздуха такого обширного региона как Васюганские болота практически не изучена, литературные сведения отсутствуют.

В настоящей работе представлены данные по микробному составу образцов атмосферных аэрозолей, отобранных во время самолетного зондирования биогенной компоненты атмосферы над территорией Васюганского болота в сентябре 2018 года.

Материалы и методы

Образцы атмосферного воздуха (объем каждого ≈ 500 л) отбирали с использованием импинджеров, содержащих 50 мл раствора Хенкса (ICN iomedicals), с расходом 50 л/мин на высотах 5500, 3000, 1000 и 500 м

с помощью лаборатории «Оптик-Э», смонтированной на самолете ТУ–134. Для выявления жизнеспособных микроорганизмов пробы аэрозолей высевали на селективные питательные среды, для обнаружения низших грибов и дрожжей применяли среду Сабуро [6]. Высевы инкубировали при температурах 28–30°C и 6–10°C до 20 суток. Индивидуальные колонии, выросшие на агаризованных средах, использовали для получения чистых культур и последующего определения их признаков. Изучение физиологических и биохимических свойств изолятов дрожжей, выполняли стандартными методами [7]. Концентрацию микроорганизмов в пробах вычисляли в соответствии [8]. Морфологию клеток исследовали с применением фазово-контрастной микроскопии с помощью микроскопа Axioskop 40 (Carl Zeiss, Германия). Таксономическую принадлежность микроорганизмов, наличие факторов патогенности определяли согласно [9, 10], используя биохимические методы и генотипирование.

Для идентификации штаммов дрожжей и дрожжеподобных грибов молекулярно-генетическими методами использовали два участка генома этих микроорганизмов: ITS — последовательность межгенного рибосомального спейсера и NS- фрагмент 18S рРНК. Реакцию секвенирования полученных ПЦР-фрагментов проводили в стандартных условиях. Электрофоретическое разделение продуктов реакции секвенирования вели с применением прибора ABI Sequencing Analyzer 3500. Полученные последовательности анализировали с использованием программного обеспечения ABI Sequence Scanner и Sequencher v. 4.1.4. Сравнение последовательностей с имеющимися в GenBank последовательностями NS и ITS-фрагментов выполняли с использованием алгоритма BLASTN. Нуклеотидные последовательности геномов родственных видов были найдены в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nih.gov>) с помощью программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Выделение меланинового пигмента проводили по методу, описанному ранее [11]. Поглощение УФ- и видимого света водными и щелочными растворами пигмента регистрировали на спектрофотометре (Genesys 5 Spectrophotometers, United States). Полученные пигменты идентифицировали при помощи качественной реакции с KMnO_4 , H_2O_2 , FeCl_3 .

Результаты и обсуждение

В ходе самолетного мониторинга биогенной составляющей атмосферных аэрозолей над Васюганскими болотами (рис. 1) на высотах до 5500 м определена численность и разнообразие культивируемых микроорганизмов, в том числе плесневых и дрожжеподобных грибов, в соответствии с фенотипическими и геномными признаками идентифицированных как относящихся

Рисунок 1 — Маршрут самолета при отборе образцов аэрозолей над Васюганскими болотами

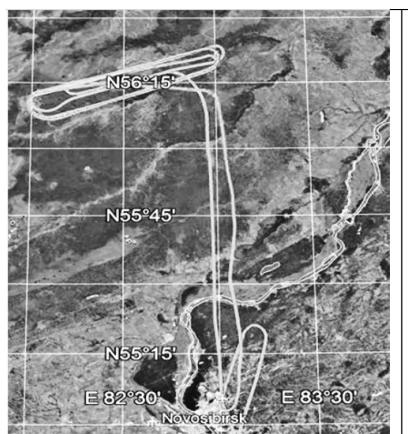
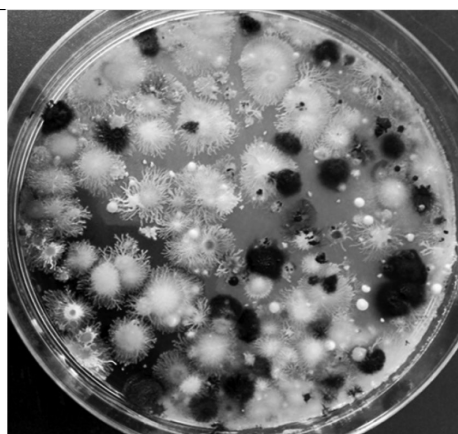


Рисунок 2 — Колонии дрожжей рода *Aureobasidium* на среде Сабуро с высевом 1 мл образца, взтого на высоте 1000 м



к родам *Penicillium*, *Aspergillus*, *Candida*, *Aureobasidium*, *Vishniacozyma*, *Bullera*, *Meyerozyma*, *Cystofilobasidium*, *Filobasidium* и др. Преобладающими среди выделенных культивируемых микробных изолятов были неспороносные бактерии рода *Acinetobacter* и психротолерантные дрожжи рода *Aureobasidium* (рис. 2), относящиеся к космополитному виду *Aureobasidium pullulans*, известному в качестве продуцента внеклеточного капсульного полисахарида пуллулана и меланина [12].

Микроорганизмы рода *Aureobasidium* чаще всего встречаются на наземных частях растений и во влажных местах обитания, могут быть выделены как контактанты, загрязняющие покровы человека, их также связывают с отдельными случаями кератита, перитонита, легочной инфекции и инвазивного микоза больных СПИДом [13].

Средние концентрации культивируемых микроорганизмов в исследуемых аэрозолях составляли $4,419 \pm 0,272$ лг КОЕ/м³ (инкубирование при 6 °С) и $4,435 \pm 0,294$ лг КОЕ/м³ (инкубирование при 30 °С). Культивируемые микроорганизмы, выделенные из образцов, отобранных на высотах 5500 и 3000 м, были представлены в основном неспороносными бактериями рода *Acinetobacter* и *Micrococcus*, в меньшем количестве были выделены представители рода *Pseudomonas*, спорообразующие бактерии и ряд других. В образцах, отобранных на высотах 1000 и 500 м, при обнаружении достаточно высокой численности неспороносных бактерий, культивировании на среде Сабуро при температуре 6–9 °С выявило высокую концентрацию психротолерантных дрожжей: в частности, обнаружено до 1000–1500 колоний при высеве на агаризованную среду 1 мл суспензии образца, отобранного на высоте 500 м. Температурный диапазон роста выделенных дрожжеподобных грибов составлял от +6 до +28 °С, однако зона оптимума находилась в промежутке от +6 до +10 °С. Изоляты дрожжеподобных грибов были протестированы на наличие ферментов желатиназы, липазы, фосфолипазы, гемолитической, фибринолитической, плазмакоагулазной активности. Все перечисленные свойства относят к косвенным признакам патогенности, для исследуемых дрожжеподобных грибов данные активности в условиях опыта не обнаружены. Выявлены штаммы дрожжей, продуцирующие

высокоактивные протеазы и амилазы, а также — обеспечивающие в культуральной среде высокую концентрацию меланинов и полисахаридов, что может иметь биотехнологическое применение.

Работы выполнены в рамках ГЗ Роспотребнадзора.

Список литературы

1. Инишева Л.И. (ред.). Васюганское болото (природные условия, структура и функционирование). Томск, 2000. 136 с.
2. Добровольская Т.Г., Кухаренко О.С., Головченко А.В. Особенности таксономического состава бактериальных комплексов торфяников разного генезиса // Материалы четвертой научной школы "Болота и биосфера". Томск: ЦНТИ, 2005. С. 169–174.
3. Гродницкая И.Д., Трусова М.Ю. Микробные сообщества и трансформация соединений углерода в болотных почвах таежной зоны (Томская область) // Почвоведение. 2009. № 9. С. 1099–1107.
4. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Кухаренко О.С., Якушев А.В., Семенова Т.А., Инишева Л.И. Структура микробных сообществ верховых и низинных торфяников Томской области // Почвоведение. 2012. № 3. С. 317–326.
5. Сергеева М.А., Хохлова А.М. Микробная биомасса и ее активность в торфяных болотах Сибири // Вестник ТГПУ (TSPU Bulletin). 2015. № 2. С. 143–147.
6. Сэги Е. Методы почвенной микробиологии. М.: Колос, 1983. 295 с.
7. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2004. 239 с.
8. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Гос. изд. мед. лит., 1962. 180 с.
9. Gardes M., Bruns T.D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes — application to the identification of mycorrhizae and rusts // Molecular Ecology. 1993. Vol. 2. N 2. P. 113–118.
10. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. Москва: Мир, 2001. 486 с.

11. Теплякова Т.В., Пучкова Л.И., Косогова Т.А. и соавт. Противовирусное средство на основе меланина. Патент № 2480227 RU.
12. Chi Z., Wang F., Chi Z., Yue L., Liu G., Zhang T.: Bio-products from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnologically important yeast // Appl Microbiol Biotechnol. 2009. Vol. 82. N 5. P. 793–804.
13. Chan G.F., Vamadhaj H.M., Gan H.M., Rashid N.A.A. Genome sequence of *Aureobasidium pullulans* AY4, an emerging opportunistic fungal pathogen with diverse biotechnological potential // Eukaryotic Cell. 2012. Vol. 11. N 11. P. 1419–1420.

НЕОБЫЧНАЯ НАХОДКА В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ЭНТОМОПАРАЗИТИЧЕСКОГО ГРИБА *CORDYCEPS FARINOSA* В КАЧЕСТВЕ ГИПЕРПАРАЗИТА РЖАВЧИННОГО ГРИБА *COLEOSPORIUM TUSSILAGINIS*

Борисов Б.А.

ООО «АгроБиоТехнология» (Производственно-научная компания), Москва

Cordyceps farinosa (Holmsk.) Kepler, B. Shrestha & Spatafora (Ascomycota: Hypocreales: Cordycipitaceae) — современное валидное название одного из наиболее часто фигурирующих в мировой литературе видов энтомопаразитических (энтомопатогенных) грибов [1]. Из 16 его синонимов [2] наиболее известными являются названия *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. и *Paecilomyces farinosus* (Holmsk.) A.H.S. Br. & G. Sm., которые использовались в подавляющем большинстве публикаций последних десятилетий. В анаморфной стадии гриб широко встречается на всех континентах [3, 4], его психротолерантные штаммы выделены даже в Антарктиде [5], тогда как телеоморфа (стромы, растущие из тела погибших насекомых) известна микологам лишь по единичным находкам [6, 7]. Будучи связанным трофически со многими видами растительноядных насекомых из разных отрядов (личинками и имаго жесткокрылых, двукрылых, гусеницами чешуекрылых, ложногусеницами пилильщиков, цикадками, медяницами и мн. др.), являющихся сельскохозяйственными и лесными вредителями, паразитирование в которых приводит хозяев к гибели, этот вид представляет большой интерес как потенциальный продуцент микроинсектицидных препаратов [8, 9].

Имеются также данные, что этот вид может поражать и других членистоногих: различные виды иксодовых клещей [10–13 и др.], изредка — пауков [14]; автором при изучении в 2011 г. возбудителей микозов беспозвоночных в заповеднике «Калужские засеки» гриб был обнаружен на мертвой многоножке-костянке *Lithobius forficatus* (Chilopoda: Lithobiidae) [7]. Но все же подобные нетривиальные сборы энтомопаразитического гриба едва ли можно считать „серьезными отклонениями из правила“.

Гораздо более удивительной выглядит находка *C. farinosa* в качестве гиперпаразита ржавчинного гриба *Coleosporium tussilaginis* s.l. (Pers.) Lév (Basidiomycota: Pucciniomycetes: Coleosporiaceae) на нижней стороне листьев мать-и-мачехи, сделанная в октябре 2018 г. на опушке леса в Одинцовском районе Московской области, в 1 км от ж.-д. станции «Голицыно». Ранее в этом лесном массиве, как и во многих других местах Московской области, *C. farinosa* часто отмечался на

разнообразных насекомых [15], в частности: под отслаивающейся корой старых елей и сосен — на личинках нескольких видов жуков-усачей (Coleoptera: Cerambycidae) и жука плоского трухляка *Pytho depressus* L. (Pythidae); в травяном ярусе (на таволге, гравилате, яснотке и др. растениях) — на личинках белокрылки *Aleyrodes lonicerae* Walker (Hemiptera: Aleyrodidae) и на нескольких видах тлей; в подстилке — на гусеницах и куколках чешуекрылых.

Столь же обычным для Московской обл. в осенний период является образование на уединенной стадии указанного ржавчинного гриба белоснежного, слегка порошащего налета гиперпаразитического гриба *Ramularia coleosporii* Sacc. s.l. (Ascomycota: Dothideomycetes: Capnodiales: Mycosphaerellaceae); местами в некоторые годы такое поражение имеет массовый характер.

Однако в месте необычной находки ярко-оранжево-красноватые структуры *C. tussilaginis* s.l. были покрыты сверху пушистым, слегка желтоватым мицелием. Выделенный с разных листьев в культуру на модифицированную среду Чапека (с добавлением 0,5% пептона и 0,5% дрожжевого экстракта) гриб формировал быстро растущие при +24°C желтовато-оранжевые клочковатые колонии с шиловидными синнемами, достигающими длины до 1,5 см, и микроскопическими признаками (овальные мелкие конидии в спутанных цепочках), характерными именно для вида *C. farinosa* [16].

В дальнейших экспериментах конидиями изолята гриба СТур-MR(Go)18, смытыми с агаризованной среды для оценки его инсектицидного потенциала, были обработаны несколько видов насекомых. Так, гибель личинок 3 возраста калинового жука-листоеда *Pyrrhalta viburni* Paykull (Chrysomelidae) после опрыскивания суспензией с титром 5×10^7 конидий/мл составила через 8 суток ≈80%, а личинок копытневой белокрылки *Aleyrodes asari* Schrank — около 60%. Это свидетельствует о наличии у изолята, выделенного из очень нехарактерного хозяина — ржавчинного гриба, достаточно высокой вирулентности в отношении насекомых. Столь же интересно будет в дальнейшем оценить его фунгицидную активность в отношении различных видов ржавчинных грибов.

Список литературы

1. Kepler R.M., Luangsa-Ard J.J., Hywel-Jones N.L. et al. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA Fungus*. 2017; 8(2): 335–353.
2. Index Fungorum: the global fungal nomenclator. Landcare Research. RBG Kew: Mycology (<http://www.indexfungorum.org>) (accessed 28. 02. 2020)
3. Евлахова А.А. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практическое значение. Ленинград: Наука, 1974: 254 с.
4. Коваль Э.З. Определитель энтомофильных грибов СССР. Киев: Наукова Думка, 1974: 260 с.
5. Tosi S., Casado B., Gerdol R., Caretta G. Fungi isolated from Antarctic mosses. *Polar. Biol.* 2002; 25(4): 262–268.
6. Pacioni G., Frizzi G. *Paecilomyces farinosus*, the conidial state of *Cordyceps memorabilis*. *Canad. J. Bot.* 1978; 56(4): 391–394.
7. Борисов Б.А. Возбудители микозов беспозвоночных заповедника «Калужские засеки»: результаты исследований на Южном участке и прилегающих территориях. Труды гос. природного заповедника «Калужские засеки». Вып. 2. Калуга: Эйдос, 2012: 29–73.
8. Борисов Б.А. Микробиологические средства. В кн.: Вредители тепличных и оранжерейных растений (морфология, образ жизни, вредоносность, борьба), гл. 5.5.1. / под ред. А.К. Ахатова и С.С. Ижевского. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2004: 197–220.
9. Zimmermann G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science & Technol.* 2008; 18(9): 865–901.
10. Kalsbeek V., Frandsen F., Steenberg T. Entomopathogenic fungi associated with *Ixodes ricinus* ticks. *Experim. & Appl. Acarol.* 1995; 19(1): 45–51.
11. Samish M., Rehacek J. Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 1999; 44: 159–182.
12. Angelo I., Fernandes E.K.K., Bahiense T.C. et al. Virulence of *Isaria* sp. and *Purpureocillium lilacinum* to *Rhipicephalus microplus* tick under laboratory conditions. *Parasitol. Res.* 2012; 111: 1473–1480.
13. Alekseev A.N. Environmentally safe control of ticks: use of *Ixodes* (Acarina, Ixodidae) tick sexual behavior peculiarities for pathogenic fungal effect reinforcement. *Int. J. Acarol.* 2011; 37: 156–165.
14. Sung G.H., Hywel-Jones N.L., Sung J.M. et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud. Mycol.* 2007; 57: 5–59.
15. Борисов Б.А., Александрова А.В. Зоопаразитические кордиципитоидные грибы Московской области. Современная микология в России. Т. 3 Матер. 3-го Съезда микологов России. М.: Национальная Академия микологии, 2012: 105–106.
16. Samson R.A. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. *Stud. Mycol.* 1974; 6: 1–119.

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ В МАКРОФИТАХ БЕЛОГО МОРЯ

Буркин А.А.¹, Кононенко Г.П.¹, Георгиев А.А.², Георгиева М.Л.^{2,3}

¹ ВНИИВСГЭ — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Москва

² МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³ НИИНА, Москва

Флора прибрежной зоны Белого моря богато представлена крупными морскими формами — макрофитами, распространенными в относительно узкой и мелководной зоне, в которой выделяют три пояса, относящихся к пространству от максимального (приливного) до минимального (отливного) уровня воды — литорали. Выше располагается супралитораль, а ниже и глубже — сублитораль. Во всех трех поясах по биомассе преобладают бурые водоросли, среди которых растут более мелкие бурые и зеленые, а в более глубоких, сублиторальных слоях — красные. Морские макрофиты издавна служили и в настоящее время служат объектом промысла и марикультуры, используются как в пищу, так и в хозяйственной деятельности — для промышленной переработки, на удобрения и корм скоту. В результате многолетних экспериментальных работ показана их перспективность как источников получения биологически активных веществ для медицинских целей и косметологии, а также высокая пищевая ценность. В последние годы внимание исследователей сосредоточено на проблемах, связанных с безопасно-

стью промысловых и искусственно выращенных макрофитов, употребляемых в пищу. Отечественными биологами в микобиоте массовых видов водорослей из прибрежной зоны Белого моря установлено присутствие потенциально токсигенных микромицетов родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* и других [1,2], однако поиск микотоксинов в таких макрофитах не проводился.

Целью данной работы стало изучение встречаемости микотоксинов в водорослевых сообществах Белого моря. Объектами исследования были 230 образцов бурых, красных и зеленых водорослей, собранных в первых числах мая и второй половине августа 2019 г. на побережье и островах пролива Великая Салма Кандакшского залива (табл.). После сбора слоевища высушивали и сохраняли в сухо-воздушном состоянии. В водно-ацетонитрильных экстрактах этих образцов определяли Т-2 токсин, дезоксиниваленон, диацетоксисцирпенон, зеараленон, фумонизины группы В, альтернариол, охратоксин А, цитринин, стеригматотоксин, афлатоксин В₁, циклопиазоновую кислоту, микрофе-

Таблица – Характеристика обследованных морских водорослей, число образцов (*n*) и результаты микотоксикологического анализа

Систематическое положение, вид	Место отбора	<i>n</i>	Степень контаминации микотоксинами
Ochrophyta			
<i>Laminaria digitata</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	сублитораль	13	–
<i>Saccharina latissima</i> (Linnaeus) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders)	сублитораль	25	–
<i>Fucus vesiculosus</i> Linnaeus	литораль	19	+++
<i>Ascophyllum nodosum</i> (Linnaeus) Le Jolis	литораль	16	++
<i>Pelvetia canaliculata</i> (Linnaeus) Decaisne & Thuret)	супралитораль	22	++
<i>Fucus serratus</i> Linnaeus	сублитораль	13	+++
<i>Fucus distichus</i> Linnaeus	сублитораль	13	+++
<i>Chorda filum</i> (Linnaeus) Stackhouse	сублитораль	18	–
<i>Chordaria flagelliformis</i> (O.F. Müller) C. Agardh	сублитораль	8	±
<i>Dictyosiphon foeniculaceus</i> (Hudson) Greville	сублитораль	8	++
Rhodophyta			
<i>Porphyra</i> spp.,	сублитораль	5	–
<i>Ahnfeltia plicata</i> (Hudson) Fries	сублитораль	9	–
<i>Phycodrys rubens</i> (Linnaeus) Batters	сублитораль	3	±
<i>Odonthalia dentata</i> (Linnaeus) Lyngbye	сублитораль	13	±
<i>Palmaria palmata</i> (Linnaeus) F. Weber & D. Mohr	сублитораль	18	±
<i>Halosaccion rametaceum</i> (Linnaeus) J. Agardh	сублитораль	5	±
<i>Coccotylus truncatus</i> (Pallas) M.J. Wynne & J.N. Heine	сублитораль	7	–
Chlorophyta			
<i>Ulva</i> spp.	сублитораль	11	±
<i>Cladophora rupestris</i> (Linnaeus) Kützting	сублитораль	4	–

ноловую кислоту, эргоалкалоиды, эмодин, PR-токсин и роридин А с помощью аттестованных иммуноферментных систем [3,4]. Нижний предел количественных измерений соответствовал 85%-ному уровню связывания антител.

Микотоксикологическими исследованиями удалось установить, что в талломах *Laminaria digitata*, *Saccharina latissima*, *Chorda filum* и *Chordaria flagelliformis*, а также в красных и зеленых водорослях, микотоксины не содержатся или имеются в следовых количествах. Напротив, у всех представителей семейства Fucaceae и *Dyctyosiphon foeniculaceus* со 100%-ной встречаемостью выявлены все анализируемые микотоксины, при этом уровни дезоксиниваленола, диацетоксисцирпенола, альтерналиола, PR токсина и эргоалкалоидов могли достигать десятков тысяч нг/г.

Подобное систематическое исследование микотоксинов в водорослях-макрофитах проведено впервые. Единственная работа посвящена обследованию 50 проб келпов из торговой сети китайской провинции Шаньдун, где в 43 из них были детектированы моноацетаты ДОН в количествах от 15.3 до 162.5 мкг/кг, а другие анализированные токсины — ДОН, ниваленол, фузаренон Х, Т-2 токсин и зеараленон не обнаружены [5].

Выявленный факт высокой сочетанной контаминации микотоксинами талломов фукусовых водорослей имеет важное прикладное значение — в прибрежной зоне их ежегодно заготавливают и традиционно используют как удобрение и на корм скоту. С другой стороны ламинарии, используемые в пищу и в хозяйственной деятельности, не содержат микотоксинов.

Кроме того, ламинариевые водоросли являются объектами марикультуры — на плантациях в Японском море разводят ламинарию японскую (*L. japonica*), костария (*Costaria costata*) является перспективным видом на Дальнем Востоке, ундарию (*Undaria pinnatifida*) или по-японски вакаме, выращивают как пищевой продукт. Макроцистис (*Macrocystis pyrifera*), или гигантский келп, обитает в Северном полушарии от южного побережья Аляски до Калифорнии [6]. Сообщества видов листоватых бурых морских водорослей под общепринятым названием «келпы» подробно изучены на содержание минеральных веществ, белков, пищевых волокон, хлорофилла, β-каротина, аминокислот, ферментов, важных для питания, и широко используются как биодобавки. Красные водоросли также культивируют для пищевых целей и производства желирующих веществ. В Белом море ведется сбор анфельдии для получения агар-агара. Она нередко отрывается от субстрата и течениями сносится в бухты, где формируются большие неприкрепленные пласты толщиной около 20 см. Некоторые виды красных водорослей употребляются в пищу, из наиболее известных — пальмария, грацилярия, порфира (в Японии — нори). Анфельдия, филлофлора и др. применяются в медицине. В некоторых странах собирают *Chondrus crispus*, из которого получают полисахарид каррагинан, зарегистрированный в качестве пищевой добавки E-407. В странах Юго-Восточной Азии зеленые водоросли (*Ulva* spp.) разводят для пищевых целей.

В России при изготовлении водорослевой муки и кормовой крупки, предназначенной для кормления

сельскохозяйственных животных, птиц и прудовой рыбы, предусмотрено использование фукусов, ламинарий, а также отходов экстракционной переработки анфельдии, ламинарии, фукусов, фуруцеллярии, филлофоры [7].

В связи с информацией, полученной в настоящем сообщении, несомненный интерес представляет изучение контаминации микотоксинами водорослей из других местообитаний Белого моря, а также микотоксикологическое исследование морской флоры Дальнего Востока.

Список литературы

1. Бубнова Е.Н., Киреев Я.В. Сообщества грибов на галломах бурых водорослей рода *Fucus* в Кандалакшском заливе Белого моря. Микология и фитопатология, 2009, 43(5): 388–396.
2. Коновалова О.П., Бубнова Е.Н. Грибы на бурых водорослях *Ascophyllum nodosum* и *Pelvetia canaliculata* в Кандалакшском заливе Белого моря. Микология и фитопатология, 2011, 45(3): 240–248.
3. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Вторичные метаболиты микромицетов в растениях семейства Fabaceae рода *Trifolium*. Известия РАН. Серия биологическая, 2018, 2: 150–157.
4. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Вторичные метаболиты микромицетов в растениях семейства Fabaceae родов *Galega*, *Glycyrrhiza*, *Lupinus*, *Medicago*, *Melilotus*. Известия РАН. Серия биологическая, 2018, 3: 267–274.
5. Li Y., Sun M., Mao X., You Y., Gao Y., Yang J., Wu Y. Mycotoxins contaminant in kelp: A neglected dietary exposure pathway. Toxins, 2018, 10: 481
6. Моисеев П.А., Карпевич А.Ф., Романычева О.Д. и др. Морская аквакультура. — М.: Агропромиздат, 1985, 253 с.
7. ГОСТ 22455–77 Мука и крупа кормовая водорослевая. Технические условия.

ДРОЖЖЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ УРБАНАЗЕМОВ НЕКОТОРЫХ ЮЖНЫХ ГОРОДОВ РОССИИ (СОЧИ, СИМФЕРОПОЛЬ, КРАСНОДАР, МАЙКОП)

Глушакова А.М.^{1,2}, Качалкин А.В.^{1,3}, Максимова И.А.¹, Умарова А.Б.¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова РАМН, Москва

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

Урбанизированные территории характеризуются глобальными изменениями всех природных компонентов экосистемы, в том числе и почвы. Именно почва во многом определяет экологическое и санитарное состояние городов. Постоянным и обязательным элементом почвенного покрова являются микробные сообщества, которые играют ключевую роль в круговороте веществ в природе и определяют состояние других компонентов экосистемы (Добровольский, Чернов, 2011; Добровольская и соавт., 2015). Дрожжевые грибы являются неотъемлемой составляющей всех почвенных микробных сообществ различных географических зон и типов почв, включая почвы городских территорий.

Впервые проводимые за последние годы мониторинговые исследования урбаноземов в различных локациях Москвы — крупнейшего мегаполиса России показали, что численность и видовое разнообразие дрожжей в гумусовом горизонте городских почв заметно меняется не только в течение года, но также существенно трансформируется под воздействием антропогенных факторов: повышения температуры почвы, наличия хозяйственно-бытовых загрязнений, автотранспортного загрязнения, типа землепользования (Тепеева и соавт., 2018). Особенно значимой с точки зрения влияния на здоровье населения, прежде всего иммунопатологий, выявленной особенностью дрожжевых сообществ городских почв является высокое разнообразие аскомицетовых дрожжей в почвах, примыкающих к придомовым зонам складирования

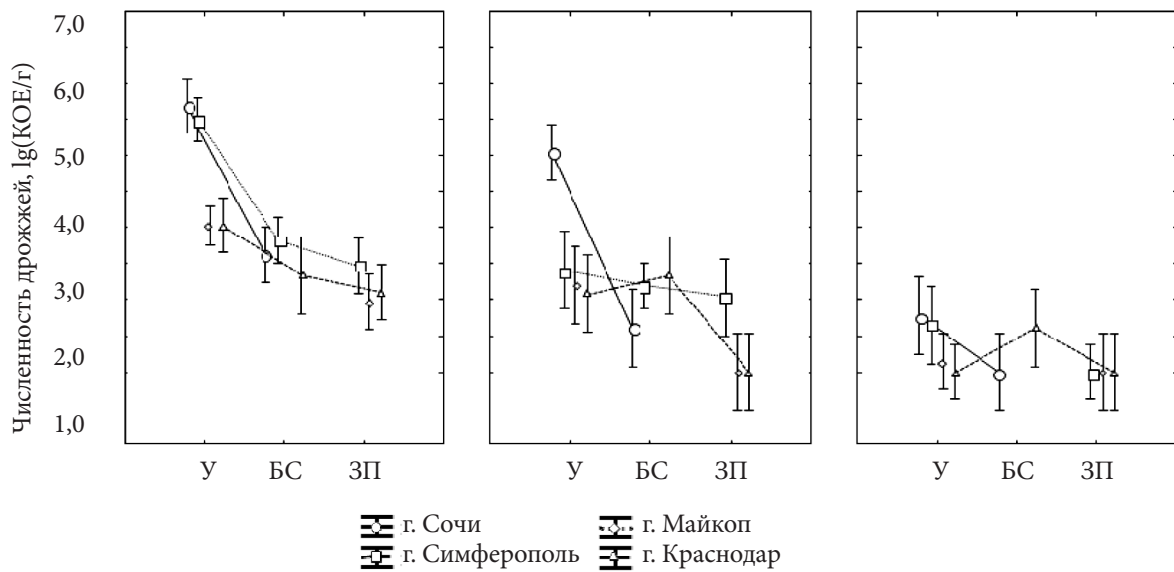
бытовых отходов. Обнаружено, что в урбаноземах с такой антропогенной нагрузкой частота встречаемости клинически важных аскомицетовых видов дрожжей (*Candida parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Diutina catenulata* и *Pichia kudriavzevii*) достигает значения 35%, а доля в сообществе — 17% (Тепеева и соавт., 2018).

В рамках расширения исследований дрожжевых комплексов урбаноземов в разных городах России, нами была предпринята попытка дать комплексную характеристику дрожжевых сообществ урбаноземов на территории некоторых южных городов (Краснодар, Сочи, Симферополь, Майкоп), различающихся по почвенно-климатическим характеристикам и величине, численности населения и интенсивности антропогенной нагрузки.

Отбор почвенных образцов проводили в 2019 году в летне-осенний и зимний периоды на площадках, расположенных на внутренних территориях образовательных и научных учреждений. Образцы почвы отбирали на глубинах: 0–20, 30–50 и 60–80 см. Контролем служили зональные почвы пригородных территорий и почвы ботанических садов, расположенных в центральных частях городов. Всего было проанализировано 48 смешанных образцов.

Для выделения дрожжей использовали метод посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду с добавлением левомицетина. Видовую идентификацию дрожжевых грибов проводили на основе анализа нуклеотидных последовательностей ITS региона рДНК.

Рисунок — Численность дрожжевых грибов в почвах (по горизонтам/слоям) исследованных городов; У — урбанозем, БС — ботанический сад, ЗП — зональная почва



Численность дрожжевых грибов уменьшалась в ряду урбаноземы — почвы ботанических садов — зональные почвы. В урбаноземах она составила в среднем 3.84 lg(COE/g), в почвах ботанических садов — 3.19 lg(COE/g), в зональных почвах — 2.61 lg(COE/g). Схожая закономерность наблюдалась и при исследовании городских почв Москвы в сравнении с почва-

ми под луговой и лесной растительностью (Тепеева и соавт., 2018).

Вниз по профилю исследованных урбаноземов и контрольных почв численность дрожжевых грибов закономерно снижалась (рисунок).

Максимальные значения численности почвенных дрожжей были выявлены в слое 0–20 см урбаноземов

Таблица. Среднее относительное обилие (%) видов дрожжевых грибов, выделенных из урбаноземов и контрольных почв Сочи, Симферополя, Майкопа и Краснодара

Виды дрожжей	Урбаноземы				Почвы ботанических садов			Зональные почвы		
	1*	2	3	4	1	2	4	2	3	4
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	19,42	0,40	0,00	27,90	0,00	0,00	13,33	0,00	0,00	0,00
<i>Solicoccozyma aerea</i>	1,43	0,00	89,17	3,60	13,33	3,20	6,37	5,47	97,57	13,33
<i>Cyberlindnera misumaensis</i>	4,23	0,00	7,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	15,33	12,74	3,75	0,00	17,35	5,88	0,00	2,63	0,00	0,00
<i>Candida membranifaciens</i>	1,90	2,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	0,00	0,00
<i>Solicoccozyma terrea</i>	33,22	66,13	0,00	0,00	63,90	74,12	0,00	90,70	2,43	0,00
<i>Candida sake</i>	24,47	18,67	0,00	0,00	5,42	16,80	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Pezizomycotina sp.</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Cystofilobasidium infirmominiatum</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,53	0,00	0,00	0,00
<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,77	0,00	0,00	1,77
<i>Candida sp. AB663086</i>	0,00	0,00	0,00	9,38	0,00	0,00	7,87	0,00	0,00	8,05
<i>Barnettozyma californica</i>	0,00	0,00	0,00	3,78	0,00	0,00	8,60	0,00	0,00	22,78
<i>Schwanniomyces capriottii</i>	0,00	0,00	0,00	10,78	0,00	0,00	5,20	0,00	0,00	0,00
<i>Bullera alba</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,55
<i>Rhodotorula graminis</i>	0,00	0,00	0,00	3,93	0,00	0,00	6,17	0,00	0,00	6,90
<i>Sporobolomyces roseus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,83	0,00	0,00	0,65
<i>Rhodosporeidiobolus colostri</i>	0,00	0,00	0,00	6,58	0,00	0,00	9,50	0,00	0,00	8,17
<i>Tausonia pullulans</i>	0,00	0,00	0,00	15,58	0,00	0,00	1,60	0,00	0,00	2,40
<i>Apiotrichum porosum</i>	0,00	0,00	0,00	12,97	0,00	0,00	16,13	0,00	0,00	32,87
<i>Candida fluvialilis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,23	0,00	0,00	0,00
<i>Debaryomyces fabryi</i>	0,00	0,00	0,00	5,48	0,00	0,00	6,87	0,00	0,00	2,53

*1 — Сочи; 2 — Симферополь; 3 — Майкоп; 4 — Краснодар

Сочи и Симферополя. Результаты трехфакторного дисперсионного анализа показали, что численность дрожжевых грибов наиболее достоверно зависит от глубины отбора образца (критерий Фишера 49,40) и типа почвы (критерий Фишера 24,12) и в меньшей степени от локации (критерий Фишера 8,87). Таким образом, наиболее существенный вклад в формирование структуры комплексов дрожжевых грибов в исследованных почвах вносит почвенный горизонт.

Всего из исследованных почв было выделено 20 видов дрожжевых грибов — 10 аскомицетов и 10 базидиомицетов (таблица).

Все выделенные базидиомицетовые дрожжи относятся к типичным педобионтным и эпифитным видам, характерным для лесных и луговых почвенных дрожжевых сообществ умеренного климата (Yurkov, 2017). Доля аскомицетовых дрожжей в урбаноземах составила 41,5%, в почвах ботанических садов — 32,3%, в зональных почвах — 12,4%. Из выделенных аскомицетовых видов дрожжевых грибов два вида, *Candida sake* и *Meurozyma guilliermondii*, относятся к клинически важным видам. Они принимают участие в формировании кандидозной инфекции у людей, прежде всего, с пониженным иммунным статусом. Их относительное обилие было наибольшим в урбаноземах Сочи и Симферополя в слое 0–20 см (24,47 и 15,33% соответственно в Сочи и 18,67 и 12,74% — в Симферополе).

Дополнительное опасение вызывает тот факт, что у многих природных штаммов оппортунистических дрожжей родов *Candida* и *Meurozyma*, в том числе и тех, которые выделяют из городских почв, все чаще за последнее время обнаруживается резистентность к широко применяемому антибиотикам (Глушакова с соавт., 2017; Ахапкина с соавт., 2020). Города Сочи и Симферополь относятся к крупным городам с численностью населения (350–400 тыс. человек), которая в летний период, с учетом туристической нагрузки, достигает 3–5 млн. человек. Высокая численность населения в городах сопровождается возрастанием количества бытовых отходов, а также зон их размещения. Именно эти зоны являются главными локусами развития потенциально патогенных и аллергенных видов дрожжей в городе.

Таким образом, неблагоприятная тенденция, связанная с развитием в урбаноземах клинически важных видов дрожжевых грибов, выявленная для крупнейше-

го мегаполиса России Москвы, наблюдается и в крупных городах южного региона России, прежде всего, в городах с высокой антропогенной нагрузкой — Сочи и Симферополь.

Изучение разнообразия дрожжевых комплексов городских почв представляет значительный интерес не только с точки зрения фундаментальной науки, но и в практическом отношении, вследствие важной роли микроорганизмов в создании и поддержании устойчивости городских экосистем, а также с точки зрения изучения микроорганизмов, которые могут прямо или косвенно оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье городского населения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19–29–05252 мк

Список литературы

1. Роль почвы в формировании и сохранении биологического разнообразия (под ред. Г.В. Добровольского и И.Ю. Чернова). М.: «Товарищество научных изданий КМК». 2011. 273 с.
2. Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096
3. Тепеева А.Н., Глушакова А.М., Качалкин А.В. Особенности дрожжевых сообществ почв города Москвы // Микробиология. 2018. Т. 87. № 3. С. 303–313
4. Yurkov A. Yeasts in Forest Soils. Yeasts in Natural Ecosystems: Diversity. Eds. Buzzini P, Lachance M.-A., Yurkov A. Springer, 2017. P. 88–116
5. Глушакова А. М., Качалкин А. В., Ахапкина И. Г. Мониторинг чувствительности к антимикотикам природных штаммов и клинических изолятов дрожжевых грибов // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 5. С. 296–300
6. Ахапкина И.Г., Глушакова А.М., Родионова Е.Н., Качалкин А.В. Эффективность антифунгальных препаратов в отношении грибов рода *Candida*, выделенных в Московском регионе // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020. № 2 (в печати)

ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВОЙ ГНИЛИ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ТОПОЛЯ БАЛЬЗАМИЧЕСКОГО (*POPULUS BALSAMIFERA L.*) В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗАЦИИ

Колтунов Е.В.

Ботанический сад УрО РАН, Екатеринбург

Городские насаждения тополя, в том числе и тополя бальзамического служат важным компонентом озеленения городской среды. Его особенностью является высокая скорость роста и устойчивость к неблагоприятным факторам городской среды. В этих усло-

виях онтогенеза он поражается многими болезнями. Особенно широко распространена стволовая гниль. Биохимический состав различных компонентов этого древесного растения изучен достаточно широко, но это относится, в основном, к почкам тополя [1]. Биохими-

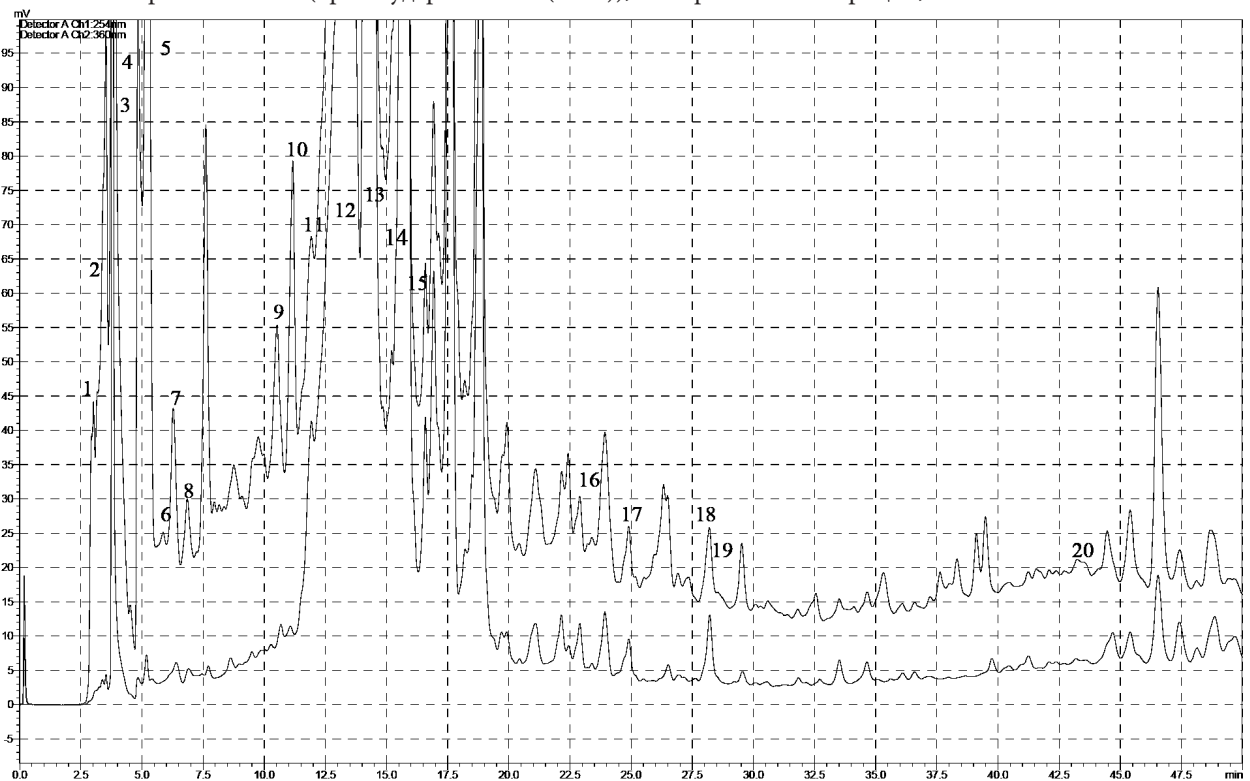
ческий состав листьев тополя бальзамического изучен значительно хуже [2,3]. В связи с этим изучение состава и содержание фенольных соединений и влияния на эти компоненты стволовой гнили и аэротехногенного загрязнения и было основной задачей исследования.

К настоящему времени результаты исследований остаются противоречивыми. Аэротехногенное загрязнение сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) сопровождается разнонаправленными реакциями фенольных соединений в хвое [4,5]. В условиях городской среды вблизи автомагистралей преобладает реакция снижения фенольных соединений [5]. При этом у флавоноидов заметно доминировала реакция возрастания этих соединений. В других условиях преобладала реакция возрастания содержания фенольных соединений у хвой сосны в условиях урбанизации [4]. У березы повислой (*Betula pendula* Roth.) стволовая гниль вызывала одинаковый уровень положительной и отрицательной реакции (по 35,9% от общего количества соединений) [6]. У идентифицированных соединений преобладала реакция возрастания фенольных соединений. Ряд авторов сообщает о двухфазном характере реакции фенольных соединений на аэротехногенное загрязнение, когда в импактной зоне преобладает реакция ингибирования синтеза этих соединений, а в зоне умеренного техногенного воздействия доминирует реакция возрастания интенсивности синтеза фенольных соединений [7].

Состав и содержание фенольных и других соединений в листьях тополя бальзамического исследовали ме-

тодом градиентной жидкостной хроматографии. Сбор листьев для ВЭЖХ проводился в городских лесопосадках г. Екатеринбурга вблизи автомагистралей 6 августа. Перед отбором проб определяли наличие или отсутствие пораженности дерева стволовыми гнилями и стадию развития болезни с помощью взятия кернов из ствола. Взятие каждой пробы листьев осуществлялось от нескольких деревьев. Затем пробы смешивались для получения средней пробы. Контрольные пробы отбирали от здоровых деревьев, не пораженных гнилевыми и другими болезнями. Сразу после сбора листья высушивали при 60°C, затем размалывали. Навеску с 2 г размолотых листьев смешивали с 20 мл 95% этанола. Экстракцию фенольных соединений из листьев проводили в водяной бане с обратным холодильником 95% этиловым спиртом в течение 30 мин. при кипении раствора. Затем суспензию центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин. Супернатант фильтровали через шприцевой фильтр с диаметром пор 0.2 мкм. Хроматографию проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 со спектрофотометрическим УФ детектором. Детектирование элюента осуществляли одновременно на двух полосах поглощения: λ_{360} и λ_{254} нм на колонке PerfectSil Target ODS-35мкм с обращенной фазой, затем вычислялось спектральное отношение параметров абсорбции ($\lambda_{360}/\lambda_{254}$). Градиентное элюирование проводилось в диапазоне 10–50% со скоростью 1 мл/мин при температуре 40° С. Элюент А – ацетонитрил–0.05 М фосфатный буферный раствор (pH=3.0); элюент В – ацетонитрил–вода (9:1). Продолжительность хромато-

Рисунок — Хроматограмма экстракта листьев тополя бальзамического. Контроль.
По горизонтали: Т_р (время удерживания (мин.)), по вертикали: абсорбция, mV



1-аскорбиновая кислота; 2-арбутин; 3-галловая кислота; 4-салицин; 5-гидрохинон; 6- кофейная кислота; 7-4-кофеилхинная кислота; 8- салидрозид; 9-феруловая кислота; 10 – изокверцетрин; 11- изокверцетин; 12-авикулярин; 13-дигидрокверцетин; 14-феникулин; 15-мирицетин; 16-лютеолин; 17-кверцетин; 18-апигенин; 19-кемпферол; 20-акацетин

графического анализа – 50 мин. Из них от 0 до 30 мин проводилось градиентное элюирование в диапазоне 10–50%, затем в течение 20 мин при концентрации 50%. Для идентификации фенольных соединений использовали 24 вещества-свидетеля фирмы: Fluka, Sigma, Aldrich. Идентификацию хроматографических пиков проводили по ВУ (время удерживания) и спектральному соотношению параметров абсорбции. Количественное определение содержания химических соединений проводили с использованием метода градуировки по внешнему стандарту. Для этого по каждому химическому соединению готовили серии разведений стандартных образцов и после проведения хроматографии по описанной выше методике строили градуировочные графики. Содержание химических соединений определяли в мг/1г СВ (сухого вещества). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью Т-критерия Стьюдента.

В целом хроматографический анализ выявил 88 пиков (рис. 1). Из них было идентифицировано 20 химических соединений. Это: аскорбиновая к-та, арбутин, галловая к-та, салицин, гидрохинон, кофейная к-та, салидрозид, феруловая к-та, изокверцетин, изокверцетрин, дигидрохверцетин, феникулин, лютеолин, кверцетин, апигенин, кемпферол, мирицетин, 4-кофеоилхинная к-та, авикулярин, акацетин (рис. 1).

Как показали результаты, часть химических соединений была ранее идентифицирована в почках тополя другими авторами, некоторые соединения в листьях тополя бальзамического нам не удалось обнаружить в публикациях других авторов.

Сравнительный анализ показал, что в листьях тополя, пораженных стволовой гнилью, в отличие от контроля, преобладающей тенденцией было возрастание содержания химических соединений (у 72,74% от общего количества фракций). У 15,9% соединений наблюдалось снижение их концентрации в листьях. У 11,36% соединений изменения отсутствовали. Из состава идентифицированных соединений наиболее значительно содержание фенольных соединений возрастало у флавоноидов: салицина, салидрозида, изокверцитрина, феникулина, изокверцетина, авикулярина, акацетина, лютеолина, кверцетина, апигенина, кемпферола и других групп соединений: кофейной к-ты, феруловой к-ты.

Как показали результаты, возрастание концентрации соединений в пораженных стволовой гнилью листьях тополей отмечено у 63,6% флавоноидов, у 27,3% их содержание не изменялось, у 9,1% их концентрация снижалась. Наиболее интенсивное возрастание концентрации флавоноидов в листьях выявлено у авикулярина (на 160,6%), акацетина (на 149,5%), кверцетина (на 77,1%), изокверцитрина (на 63,16%).

Снижение концентрации фенольных и других соединений наблюдалось у аскорбиновой к-ты, арбутина, гидрохинона, галловой к-ты, дигидрохверцетина. Отсутствие изменений – у мирицетина. У фенолгликозидов концентрация в листьях пораженных растений

возрастала. У салицина – на 21,46%, салидрозида – на 71%, арбутина – на 6,47%.

Полученные нами результаты позволяют предположить, что возрастание концентрации химических соединений в листьях, пораженных гнилями деревьев, является проявлением комплексной реакции тополя бальзамического на оксидативный стресс (как на стволовую гниль, так и на аэротехногенное загрязнение, которое также сопровождается возрастанием содержания соединений с антиоксидантной активностью). Хотя в целом, реакция различных видов древесных растений как на аэротехногенное загрязнение среды, так и на стволовую гниль заметно отличается. Это, вероятно, обусловлено, как видоспецифичностью реакции, так и разным уровнем резистентности различных видов древесных растений и разными механизмами адаптации к воздействию этих факторов. Это дополняется и фунготоксичностью ряда фенольных соединений и, соответственно, негативным воздействием на ксилотрофные базидиомицеты в тканях древесных растений [8].

Список литературы

- Исаева Е.В., Ложкина Г.А., Рязанова Т.В. Исследование спиртового экстракта почек тополя бальзамического // Химия растительного сырья. 2009; №1: С. 83–88.
- Isidorov V. A., Vinogorova V. T. GC-MS analyses of compounds extracted from buds of *Populus balsamifera* and *Populus nigra* // Z. Naturforsch. 2003; P. 355–360.
- Isaeva E. V., Rjazanova T. V., Gavrilova L. V. Gruppovoj himicheskiy sostav list'ev topolja // Sciences of Europe. 2016; Vol. 1, № 8: P. 116–121 (Praha, Czech Republic).
- Шавнин С.А., Колтунов Е.В., Яковлева М.И. Влияние урбанизации на состав и содержание фенольных соединений в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Современные проблемы науки и образования. 2014; № 6 (<https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17151>)
- Колтунов Е.В. Влияние аэротехногенного загрязнения на состав и содержание фенольных соединений в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях урбанизации // Успехи современного естествознания. 2019; № 9 (<http://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=37191>)
- Колтунов Е.В., Яковлева М.И. Влияние стволовой гнили на состав и содержание фенольных соединений в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в лесах Зауралья в условиях антропогенного воздействия // Современные проблемы науки и образования. 2015; № 5 (<https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21797>)
- Артемкина Н.А. Низкомолекулярные фенольные соединения древесной зелени ели европейской (*Picea abies* L.). 2001; автореф. дисс. ... канд. хим. наук. СПб, 18 с.
- Nafie E., M. Mazen Chemical – Induced Resistance against Brown Stem Rot in Soybean: The Effect of Benzothiadiazole // Journal of Applied Sciences Research. 2008; 4(12): P. 2046–2064.

БИОМАССА ГРИБОВ И ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМОЙ МИКОБИОТЫ г. АПАТИТЫ, МУРМАНСКАЯ ОБЛАСТЬ

Корнейкова М.В.¹, Сошина А.С.¹, Никитин Д.А.²

¹Институт проблем промышленной экологии Севера – обособленное подразделение
ФИЦ КНЦ РАН, Апатиты

²Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

Городские почвы принципиально отличаются от естественных по условиям формирования и функционирования, тем не менее их экологические функции и экосистемные сервисы остаются малоизученными, особенно в контексте специфики региональных биоклиматических условий (Morel et al., 2015). Чувствительность микроорганизмов к внешним воздействиям, в том числе антропогенной нагрузке, позволяет использовать изменения в численности и таксономической структуре почвенного микробиома в качестве индикаторов состояния городских экосистем.

Микробиологические исследования городских почв в основном проведены в зонах умеренного и теплого климата, в то время как полярные регионы мало изучены. Для Кольского полуострова почвенные микроорганизмы изучены только в Мурманске (Турчановская, Богданова, 2011; Перетрухина, 2011) и Кандалакше (Марфенина, 2002). Целью работы стала оценка состояния грибного сообщества в почвах основных функциональных зон города Апатиты.

Объекты и методы

Объектами исследования были выбраны наиболее характерные и типичные почвы города разных зон: селитебной (внешний двор (RZ-O) и внутренний двор (RZ-I)), детская площадка на внутреннем дворе (RZ-I-PG), пешеходная дорога без твердого покрытия на внутреннем дворе (RZ-I-TR); общественно-рекреа-

ционной (S-R); сельскохозяйственной (AR). В качестве фоновой почвы выбран подзол иллювиально-железистый грубогумусированный на озерно-ледниковых отложениях, располагающийся в окрестностях г. Апатиты (FT). Отбор почвенных образцов проводили из слоя 0-10 см.

Запасы и структуру биомассы грибов определяли методом люминесцентной микроскопии с применением флуоресцентного красителя калькофлуора белого. Учет спор и длины мицелия осуществляли на люминесцентном микроскопе Zeiss Axioskop 2 plus (Германия) при увеличении 400×. Расчет грибной биомассы (мг/г почвы) проводили, полагая, что плотность спор равна 0.837 г/см³, а плотность мицелия – 0.628 г/см³ (Polyanskaya, Zvyagintsev, 2005).

Анализ биологического разнообразия грибов выполнен на основе культурально-морфологических признаков (микроскоп Olympus CX41) с использованием современных определителей. Наименование видов и систематическое положение дано по базе данных: CAB International Databases (<http://www.indexfungorum.org>). Для ряда видов, выделенных в виде стерильного мицелия, идентификацию осуществляли на основании анализа участка ITS1–5.8S–ITS2 рДНК.

Результаты и обсуждения

Биомасса грибов в исследуемых почвах изменялась от 0.042 до 0.309 мг/г почвы и снижалась в ряду: FT Ю.

ФОРМИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСА МИКРОМИЦЕТОВ, ЗАСЕЛЯЮЩИХ СУБСТРАТ, ПРИ ВНЕСЕНИИ БИОПРЕПАРАТОВ

Лапина В.В.¹, Дудникова С.А.¹, Жемчужина Н.С.²

¹Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева, Саранск

²Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы

Ограниченный набор культур, выращиваемых в условиях современных теплиц защищенного грунта, создает специфические условия для формирования комплексов доминирующих фитопатогенов. Это служит предпосылкой для снижения устойчивости растений к абиотическим факторам и высокой восприимчивости к фитопатогенам, что может служить одной из причин гибели или снижения количества и качества урожая [1]. На рост и развитие выращиваемой культуры существенное влияние оказывает формирующийся биоценоз, являющийся основной средой обитания корней.

Биоценоз искусственного субстрата в силу ограничения видового ботанического разнообразия воз-

делываемых культур, имеет также небогатое видовое биоразнообразие микроорганизмов, не отличающееся своим постоянством. Биоценоз может изменяться под воздействием различных факторов и стать управляемым, что приводит к появлению различных болезней: корневые и прикорневые гнили, фузариозы, питиоз, аскохитоз, бактериозы и т. д. Однако существующая технология возделывания огурца в защищенном грунте обычно не учитывает состава микрофлоры, ее численности и динамики [2]. Поэтому для создания и поддержания управляемого в фитосанитарном отношении биоценоза субстрата необходимо регулировать численность и состав его микрофлоры. К изменению

структурного комплекса и увеличению общего числа видов микроорганизмов приводит антропогенное воздействие на растения в теплице, и одним из способов формирования и управления микробиологическим составом биоценоза субстратов является использование биопрепаратов, действующим началом которых являются микроорганизмы — антагонисты, не оказывающие отрицательного воздействия на окружающую среду, людей и теплокровных животных [3].

Анализ литературных данных по микологическим исследованиям свидетельствует о небогатом опыте изучения микрофлоры кокосовых субстратов. В этой связи исследования по данному вопросу являются актуальными. Они имеют не только фундаментальное значение, но и открытый практический интерес. Учитывая это, цель наших исследований состояла в изучении внесения биопрепаратов, влияющих на формирование биоценоза в кокосовых субстратах с момента высадки рассады и до окончания культурооборота.

Эксперимент был проведен в 2017- 2018 гг. в сельскохозяйственном предприятии СХ АО «Овощевод», расположенном в Самарской области в четвертой световой зоне. Объектом исследований служили растения огурца гибридов F₁ «Кураж» и «Атлет» селекции фирмы «Гавриш» и микроорганизмы, населяющие кокосовый субстрат.

Схема исследований включала 2 варианта: 1. Контроль (без внесения биопрепаратов); 2. Внесение биопрепаратов. Были использованы препараты: Бинал, Ж (*Bacillus subtilis* + *Trichoderma viride*) и Витариз Экстра, Ж (*Pseudomonas fluorescens*), которые вносили под корень через капельный полив с периодичностью в 21 день. В течение летне-осеннего культурооборота было проведено всего 6 циклов.

Как отмечалось ранее, первичный биоценоз формируется под воздействием различных факторов, одним из которых может быть эпифитная микрофлора семян огурца. По этой причине нами была проведена фитодиагностика посевного материала огурца — гибридов F₁ Атлет и F₁ Кураж. Полученные результаты показали, что внешняя оболочка анализируемых семян оказалась стерильной по отношению к грибной инфекции, что, скорее всего, объяснялось фунгицидной обработкой исследуемых семян, как было заявлено на упаковке.

При определении внутренней инфекции семян гибрида F₁ Кураж присутствия грибной инфекции также не обнаруживалось. При микроскопическом исследовании семян огурца гибрида F₁ Атлет выявлена незначительная обсемененность (95 КОЕ/г) микроскопическими грибами рода *Penicillium spp.*

Таблица 1 — Предпосевная фитодиагностика семян огурца гибридов F₁ Атлет и F₁ Кураж, КОЕ/г

Инфекция	гибрид F ₁ Атлет	гибрид F ₁ Кураж
Грибная:		
Внешняя	–	–
Внутренняя	95	–
Бактериальная:		
Внешняя	22	–
Внутренняя	34	–

При анализе результатов внешней бактериальной обсемененности установлено наличие бактериальных клеток: семена гибрида F₁ Кураж (0 КОЕ/г), семена гибрида F₁ Атлет (22 КОЕ/г).

Количество внутренней бактериальной обсемененности для семян гибрида F₁ Кураж количество бактерий составило 0 КОЕ/г, для семян гибрида F₁ Атлет – 34 КОЕ/г.

Проведенные исследования показали, что семена огурца гибрида F₁ Кураж стерильны, а семена огурца гибрида F₁ Атлет содержат поверхностную и внутреннюю незначительную контаминацию непатогенной микрофлорой, что свидетельствует о высоком качестве и свежести исследуемого материала.

Для существования большинства грибов в почве необходимо проникновение и распределение в ней корней различных растений. В период активной вегетации растений происходит наиболее бурное развитие микроорганизмов в корневой зоне растений за счет корневых выделений. Кроме этого, на формирование видового состава микромицетов почв при заселении определенных органов растений существенное влияние оказывают внешние факторы: температура, pH среды, отношение к кислороду, углекислоте и т. д. Фитопатогенные микроорганизмы более адаптированы к внешним факторам среды, что также способствует заселению ими определенных экологических ниш ризосферы. В зоне ризосферы грибы располагаются на расстоянии до 1 мм от поверхности корней.

Являясь постоянными обитателями прикорневой зоны растений и находясь непосредственно на корнях и внутри них, микромицеты используют корневые выделения растений для своего питания.

В наших исследованиях первичная структура сообщества прикорневой зоны субстрата была практически однообразной как в контроле, так и в опыте. Она отличалась небогатым биоразнообразием и характеризовалась как условно-патогенная микрофлора. В ходе прохождения культурооборота происходило уменьшение стабильности комплексов сапротрофных грибов, что могло свидетельствовать о смене доминантного комплекса.

Было отмечено, что в конце летне-осеннего культурооборота в контроле наблюдалось невысокое содержание видов родов *Micor spp* (8,1%) и *Penicillium spp* (10,3%), тогда как доля их присутствия в опыте была гораздо выше (табл. 2).

В опытном варианте возросло число колоний грибов рода *Acremonium spp* до 10,5%, тогда как в контроле они отсутствовали совсем, а виды рода *Alternaria spp* не определялись ни в опыте, ни в контроле.

В контроле чаще всего отмечались колонии патогенных микромицетов *Fusarium oxysporum* (27,9%) и *Pythium debaryanum* (25,4%). Далее следовал вид *Trichoderma viride*, доля присутствия которого составила 17,9%. Присутствие и развитие конкретного вида рода *Trichoderma viride*, в контроле на наш взгляд объясняется тем, что в летне-осеннем культурообороте кокосовые маты использовались повторно, после применения их в зимне-весеннем культурообороте, где в них вносили триходермины, в т. ч. и в контроль. Лигнин и целлюлоза, содержащиеся в кокосовом субстрате,

Таблица 2 — Встречаемость микроорганизмов, заселяющих корни огурца в период прохождения летне-осеннего культурооборота, %

Вид микроорганизма	Начало культурооборота		конец культурооборота	
	контроль	опыт	контроль	опыт
<i>Acremonium</i> spp.	4,1	4,8	–	10,5
<i>Alternaria</i> spp.	13,5	11,3	–	–
<i>Aspergillus</i> spp	4,9	3,9	9,5	4,6
<i>Fusarium oxysporum</i>	–	–	27,9	–
<i>Mucor</i> spp.,	10,7	11,3	9,2	13,3
<i>Penicillium</i> spp.	13,8	14,1	11,4	16,4
<i>Pythium debarianum</i>	–	–	25,4	–
<i>Trichoderma</i> spp.	4,1	6,2	17,9	33,9

способствовали выживанию и размножению триходермы.

В конце культурооборота в опыте отсутствовали патогенные микроорганизмы *Fusarium oxysporum* и *Pythium debarianum*, а частота встречаемости токсикообразующих грибов *Aspergillus* spp. уменьшилась в 2 раза.

Таким образом, повторное использование кокосового субстрата и периодическое внесение в него смеси биопрепаратов способствовало уменьшению видового биоразнообразия микромицетов в целом, и доминирующую позицию стали занимать микроорганизмы, интродуцированные из биопрепаратов.

Список литературы

1. Гиль Л.С., Пашковский А.И., Сулима Л.Т. Современное овощеводство закрытого и открытого грунта. Практическое руководство. — Житомир: Изд-во Рута. 2012. — 468 с.
2. Новожилов К.В. Некоторые направления экологизации защиты растений // Защита и карантин растений. — 2003. — № 8. — С. 14–18.
3. Корсак И.В., Сенаторова Н.Н., Пономарев А.В., Смородинова М.А. Совместное применение триходермы и регуляторов роста против возбудителя корневых гнилей огурца *Rhizoctonia solani* // Известия ТСХА. — 2010. — Вып. 5. — С. 76–81.

ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С КОРОЕДОМ-ТИПОГРАФОМ, И ОСОБЕННОСТИ ИХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ

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

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

Хорошо известно, что насекомые тесно связаны с различными группами микроорганизмов и, в частности, с грибами. Их взаимоотношения могут носить крайне разносторонний характер — от мутуализма до антагонизма. Ярким примером таких взаимоотношений могут являться комплексы грибов, связанных с жуками-короедами. Показано, что короеды вовлечены в мутуалистические взаимоотношения с ксилпатогенными грибами. Этот симбиоз остается до конца не изученным, и непонятно насколько зависят партнеры друг от друга. Кроме мутуалистических взаимоотношений короеды являются мишенью для энтомопаразитических грибов, которые в определенной степени могут выступать в качестве естественного регулятора численности данной группы вредителей. Ранее уже проводились работы по изучению микобиоты насекомых — вредителей хвойных пород [1–3]. Однако исследований, посвященных взаимодействию грибов разных трофических групп с короедами, крайне мало.

В связи с этим нами проведен комплекс исследований по оценке таксономического состава микобиоты

имаго короеда-типографа в Ленинградской области и определению особенностей взаимодействия грибов разных трофических групп.

В 2017 году были установлены ловушки барьерного типа на восьми удаленных участках Ленинградской области. Отлов насекомых в период массового лета проводился ловушками Барьер-500 производства ВНИИХСЗР с диспенсером, пропитанным специфичным для короеда-типографа феромоном. Выделение и идентификация грибов с поверхности кутикулы и из полости тела жуков описаны нами ранее [4].

Таксономический состав этих грибов был представлен тринадцатью родами, которые можно условно разделить на четыре экологическими группы: ксилотрофные базидиальные грибы (*Bjerkandera*, *Fomitopsis*, *Irpex* и *Polyporus*), энтомопатогены (*Beauveria*, *Lecanicillium* и *Isaria*), деревоокрашивающие грибы (*Ophiostoma* и *Grosmannia*) и неспециализированные сапротрофы (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*).

На следующем этапе исследований была проведена оценка особенностей взаимодействия выделенных изо-

лятов, относящихся к трем экологическим группам (деревоокрашивающие, энтомопатогенные и дереворазрушающие грибы), методом встречного роста.

Динамику радиального роста оценивали в течение 45 дней после посева. В ходе эксперимента изучали интенсивность роста и антагонизм двух изолятов ксилотрофных базидиомицетов из родов *Bjerkandera* и *Irpex*, трех культур офиостомовых грибов (два штамма *Ophiostoma ainoae*, один штамм *Oph. cf. brunneolum*) и трех энтомопатогенов из родов *Beauveria*, *Isaria* и *Lecanicillium*.

Наблюдения показали, что наибольшая скорость радиального роста была характерна для ксилотрофных базидиомицетов: их суточный прирост составил 19.9 мм (*Bjerkandera* sp.) и 10.8 мм (*Irpex* sp.). Уже через 4–8 дней чашки полностью покрывались мицелием этих грибов. Минимальные значения этого показателя наблюдались для группы энтомопатогенов (2.2–3.4 мм/сутки). Между всеми тремя трофическими группами грибов по скорости радиального роста различия были статистически достоверными ($P = 0.05$).

Оценка совместного роста базидиомицетов с представителями двух других экологических групп грибов показала, что ксилотрофы существенно угнетают развитие других грибов путем интенсивного поверхностного нарастания на них быстро развивающегося воздушного мицелия. При этом колонии грибов, подвергшиеся зарастанию, практически не лизировались. По всей видимости, речь идет не об антагонистических, а о конкурентных взаимоотношениях, при которых один из партнеров благодаря более высокой скорости роста ограничивает развитие другого.

При совместном выращивании офиостомовых и энтомопатогенных грибов в месте соприкосновения колоний представители первой группы микромицетов начинали формировать валики из стерильного мицелия и дальнейший их рост в этом направлении прекращался. Энтомопатогены также останавливали глубинную утилизацию питательного субстрата. При этом в месте соприкосновения колоний стерильной зоны или зоны лизиса не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии взаимного антибиотического действия. В дальнейшем имело место поверхностное развитие энтомопатогенных грибов на колониях деревоокрашивающих микромицетов. В данном случае картина принципиально отличалась от той, которая имела место для ксилотрофных грибов. Здесь плот-

ность воздушного мицелия энтомопатогенов была минимальной, и наблюдалось активное формирование конидиогенных структур. Скорость развития представителей различных таксонов энтомопатогенов на колониях офиостомовых грибов существенно различалась. Наиболее интенсивное развитие было характерно для изолята из рода *Isaria*, минимальное — для *Beauveria*. В данном случае вполне логично предположить наличие антагонистического влияния энтомопатогенных форм микромицетов в отношении деревоокрашивающих грибов. Однако вопрос о типе и механизме этого воздействия остается открытым. Принимая во внимание рост анаморфных энтомопатогенов непосредственно по поверхности колоний офиостомовых грибов, можно предположить у первых наличие паразитических свойств в отношении вторых.

Таким образом, грибы разных трофических групп, занимающих один биотоп, вступают в ярко выраженные конкурентные отношения. При этом деревоокрашивающие аскомицеты и ксилотрофные базидиальные грибы выступают в качестве элементов сукцессии при деградации древесины, а энтомопатогенным формам необходимо сохраняться и выживать в условиях жесткой конкуренции с другими грибами, демонстрирующими более интенсивный рост.

Исследования частично поддержаны грантом РФФИ № 17-04-00474

Список литературы

1. Six D. L., Wingfield M. J. The role of phytopathogenicity in bark beetle — fungus symbiosis: a challenge to the classic paradigm // *Annual Review of Entomology*. 2010. № 56. P. 255–272
2. Пашенова Н. В., Ветрова В. П., Матренина Р. М., Сорокина Е. Н. Офиостомовые грибы в ходах большого листовичного короеда // *Лесоведение*. 1995. № 6. С. 62–68
3. Пашенова Н. В., Петько В. М., Керчев И. А., Бабичев Н. С. Перенос офиостомовых грибов уссурийским полиграфом *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera, Scolytidae) в Сибири // *Изв. СПбЛТА*. 2012. № 200. С. 114–120.
4. Леднев Г.Р., Левченко М.В., Казарцев И.А. Грибы, ассоциированные с короедом-типографом (*Ips tyrographus*) в Ленинградской области // *Микология и фитопатология*. 2019. Т. 53. № 2. С. 80–89.

РАЗВИТИЕ ГРИБОВ В УСЛОВИЯХ МЕНЯЮЩЕГОСЯ КЛИМАТА

Мамедов М.М.

¹Воронежский государственный лесотехнический университет²Воронежский государственный медицинский университет

Стремительно меняющийся климат на нашей планете оставляет опечаток на многих живых организмах, меняя их развитие, образ жизни и распространение. В результате этого развития образуются наиболее вирулентные штаммы патогенов (грибов и вирусов), перед которыми человечество зачастую становится бессильным. Цель исследований — анализ последствий воздействия теплого климата на развитие грибов. На основе результатов исследований и литературных данных предложены превентивные меры по ограничению развития патогенных грибов в сосновых борах и дубах

России и замедлению будущих климатических изменений.

Многолетние исследования (с 2006 года) проводились в дубравах и сосняках Среднерусской лесостепи (Шипов лес, Хреновской бор), а также в сосновых древостоях Ульяновской области.

Тест — объекты: аскомицет *Erisiphe aliphitoides*, базидиомицеты *Heterobasidion annosum* и *Porodaedalea pini*.

Обилие (*abundance*) спорокарпов *Erisiphe aliphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini* как среднее

Таблица 1 — Шкала оценки обилия спорокарпов патогенных грибов

Баллы	Среднее число особей на 100 деревьев по видам грибов			Уровни обилия
	<i>Erisiphe aliphitoides</i>	<i>Heterobasidion annosum</i>	<i>Porodaedalea pini</i> .	
4	15–25, ср. 20	5–6, ср. 5,5	5–6, ср. 5,5	Очень высокий уровень
3	9–14, ср. 15	3–4, ср. 3,5	3–4, ср. 3,5	Средний уровень обилия
2	2–8, ср. 5	2–3, ср. 2,5	2–3, ср. 2,5	Низкий уровень обилия
1	<2, ср. 0,5	<1, ср. 1	<1, ср. 1	Единичный уровень
0	0	0	0	Нулевой уровень

Примечание. Среднее число базидиокарпов *Heterobasidion annosum* определялось в очагах корневой губки, *Porodaedalea pini* — в сосновых древостоях IV-V классов, *Erisiphe aliphitoides* — на 1 см² листовой пластинки на пораженных

Таблица 2 — Динамика развития болезней (D), вызываемых грибами *Erisiphe aliphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini*, в исследованных насаждениях

Патоген	Развитие болезней (%) по периодам наблюдений (годы)			Уровень значимости, %
	2006–2010	2011–2015	2016–2019	
<i>Erisiphe aliphitoides</i>	86	91	94	0,05
<i>Heterobasidion annosum</i>	48	53	55	>0,05
<i>Porodaedalea pini</i>	8	13	17	0,05

Таблица 3 — Динамика обилия спорокарпов патогенных грибов *Erisiphe aliphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini*, в исследованных насаждениях

Патоген	Динамика обилия спорокарпов (%) по периодам наблюдений (годы)			Уровень значимости, %
	2006–2010	2011–2015	2016–2019	
<i>Erisiphe aliphitoides</i>	32	21	0,1	0,05
<i>Heterobasidion annosum</i>	4	0,8	0,1	0,05
<i>Porodaedalea pini</i>	0,9	0,3	0,02	0,05

Таблица 4 — Обилие спорокарпов *Porodaedalea pini* в сосняках Ульяновской области

Типы леса	Обилие спорокарпов, %	Уровень значимости, %
Сосняк сложный	2,8	0,05
Сосняк разнотравный	2,5	0,05
Сосняк лишайниковый	1,9	0,05

число особей, приходящихся на 100 деревьев определялось по 5-бальной шкале (табл. 1).

Развитие болезни определялось по формуле:

$$D = \frac{\sum(n \times b)}{N \times B} 100\%$$

где D — развитие болезни,%; N — общее количество учетных растений; B — высший бал по принятой шкале; n — число растений определенного балла; b — определенный балл.

Статистический анализ. Количественные оценки были получены на основе однофакторного вариантного анализа. Их достоверность проверялась посредством χ^2 . Уровень значимости $P \leq 0,05$.

Динамика развития болезни листьев дуба, вызываемой патогеном *Erisiphe alphitoides*, корневой пестрой ямчато-волокнистой гнили сосны, вызываемой патогеном *Heterobasidion annosum*, стволовой пестрой ядровой гнили, вызываемой патогеном *Porodaedalea pini*, в исследованных насаждениях представлена в таблице 2.

Как следует из таблицы 2, развитие болезней, вызываемых *Erisiphe alphitoides* и *Porodaedalea pini* в исследуемом периоде, имело тенденцию к росту, болезнь, вызываемая *Heterobasidion annosum*, имело устойчивый характер.

Динамика обилия спорокарпов патогенных грибов патогенных грибов *Erisiphe alphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini* в исследуемом периоде, представлена в таблице 3.

Как следует из таблицы 3, динамика обилия спорокарпов патогенных грибов *Erisiphe alphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini*, в исследованных насаждениях, имела четко выраженную тенденцию к снижению.

Мучнистая роса — это заболевание, вызываемое грибами порядка *Erysiphales* (*Ascomycota*), которое может наносить существенный вред растению — хозяину. От этого заболевания серьезно страдает дуб черешчатый (*Quercus robur*). Особенно это касается молодых растений. Сезонная динамика развития *Erisiphe alphitoides* демонстрирует значительные различия по годам. Общая картина состоит в закономерной смене сексуальной (преимущественно, июнь — июль) и асексуальной (преимущественно, август- сентябрь) стадий гриба [1]. При рассмотрении этого вида в некоторые годы он был отмечен только в стадии анаморфы. Наиболее массовое развитие спорокарпов происходило в 2006–2010 г., когда уже в июне была обнаружена развивающаяся телеоморфа

Таким образом, в условиях Среднерусской лесостепи (Воронежская область) проявилась противоречивая тенденция повышения или стабилизации разви-

тия болезней, вызываемых грибами *Erisiphe alphitoides*, *Heterobasidion annosum*, *Porodaedalea pini* при четко выраженной тенденции снижения обилия их спорокарпов. Данный феномен объясняется доминированием асексуального цикла размножения патогенных грибов.

Обилие спорокарпов *Porodaedalea pini* в сосняках Ульяновской области представлено в таблице 4

Как следует из таблицы 4, уровень обилия спорокарпов *Porodaedalea pini* в сосняках Ульяновской области значительно превышает уровень обилия спорокарпов в сосняках более южной Воронежской области (табл. 3). Данный феномен объясняется ингибированием сексуального цикла развития патогена в условиях более тепло и сухого климата [2]. Развитие болезни происходило почти исключительно по асексуальному циклу.

Асексуальный цикл развития патогенных грибов более опасен для насаждений древесных растений, поскольку при этом распространяются наиболее вирулентные штаммы патогена и в популяции патогена доминирует направленный естественный отбор, инициирующий эпифитотии. Проблема защиты леса от патогенных грибов в условиях глобального потепления заключается в том, чтобы противостоять развитию эпифитотий [3]. Наиболее эффективен для достижения этой цели эколого-генетический подход, формирование мозаичных насаждений.

В условиях гетерогенных насаждений подавляются популяции важнейших патогенных грибов, что является следствием инбридинга — значительного повышения вероятности идентичности двух аллелей в потомстве патогена и при этом возрастает гомозиготность популяции и как следствие — инбридинговая депрессия популяции патогена.

Список литературы

1. Мамедов М.М. Современная микология в России: материалы 4 съезда микологов России, 12–14.04.2017 / гл. ред. Ю.Т. Дьяков; Общероссийская общественная организация «Национальная академия микологии». — М.: Национальная академия микологии, 2017. — Т. 7, гл. 12: Фитопатогенные грибы: 72–74 с.
2. Арефьев Ю.Ф., Мамедов М.М. Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. — 2017. — №3 (357): 61–69 с.
3. Арефьев Ю.Ф., Мамедов М.М. Лесные экосистемы в условиях меняющегося климата: проблемы и перспективы: материалы международной научно-технической юбилейной конференции, посвященной 100-летию кафедры лесоводства, лесной таксации и лесоустройства, 21–22 мая 2015 г. / отв. ред. С.М. Матвеев; Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова. — Воронеж: Типография «Кварта», 2015: 305–308 с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА МИКРОМИЦЕТЫ ПОЧВЫ

Масленников А.А., Демидова С.А., Антонов В.А.
«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
Федерального медико-биологического агентства, Волгоград

Общеизвестно, что почвенные микромицеты, обладают высокой полифункциональностью, осуществляют многообразные процессы в почве и являются биоиндикатором ее загрязнения различными токсичными химическими загрязнителями антропогенного характера. Одним из таких опасных для объектов окружающей среды (в том числе и почвы) вредных химических соединений является нитроглицерин, широкомасштабное производство и применение которого необходимо для решения ряда народнохозяйственных (горнодобывающая отрасль, строительные работы) и оборонных задач, а также использования в медицине.

В виду высокой стабильности физическая и химическая деградация соединения в почве происходит медленно [1]. Вследствие этого не исключено его негативное воздействие на общесанитарные характеристики почвы (микробиоценоз, процессы нитрификации, ферментативную активность, продуцирование диоксида углерода), проявления фитотоксичности, способности мигрировать в воздух атмосферы и воду водоемов.

В этой связи впервые проведены экспериментальные исследования токсического воздействия нитроглицерина на микрофлору почвы (в том числе микромицеты), являвшиеся составной частью вышеуказанных работ по обоснованию ПДК соединения в данной биосреде.

Исследования выполнены в соответствии с требованиями действующих методических рекомендаций (МР № 2609–82) и руководства «Гигиеническое нормирование химических веществ в почве» [2, 3].

Оценку проводили по общей численности колоний микромицетов (без дифференциации их видового разнообразия) при выращивании на среде Чапека — селективной для данного вида почвенной микрофлоры.

Влияние соединения на жизнеспособность микромицетов изучали в соответствии с методическими документами и данными литературы [2–8]. При этом

определяли пороговую и допустимую концентрации хемотоксиканта в почве.

Вещество вносили в почву в следующих концентрациях: 1,0, 0,3 и 0,1 мг/кг.

Для соблюдения принципа экстремальности исследования проведены с использованием почвенной смеси: почвы средней полосы европейской части России (верхний слой 0,0–25,0 см) с не загрязненных токсикантом участков и модельного почвенного эталона, предварительно подготовленного средне мелкозернистого карьерного песка, отобранного с глубины не менее 3 метров от поверхности грунта [2, 3], который обеспечивает максимальную фильтрацию и минимальную сорбционность. Содержание углерода в почвенной смеси составляло 0,5%.

Схема проведения опыта сводилась к следующему. В течение всего периода исследований сосуды с почвенной смесью (как с загрязненной, так и с контрольной) выдерживали при комнатной температуре (20,0–25,0 °С) в темноте. С целью поддержания необходимой влажности (60,0% полной влагоемкости) периодически в них добавляли стерильную водопроводную воду [2–4].

Длительность эксперимента составила 14 суток [2, 3]. Микробиологические отборы проб и посевы из почвы проводили на 0-е, 1-е, 3-и, 7-е, 10-е и 14-е сутки, с момента внесения вещества в почвенную смесь [2, 3]. Для каждого варианта опыта применена 3-х кратная повторность.

Чашки Петри с указанной питательной средой, загрязненной исследуемым веществом, выдерживали в течение всего эксперимента в термостате при температуре 25,0 °С [4–8].

В качестве критерия вредного действия соединения принимали уровень подавления роста, а так же стимуляцию развития колоний микромицетов на 50,0% относительно контроля [2–4].

Таблица — Численность микромицетов под воздействием нитроглицерина (количество тысяч колоний / 1 г почвы с учетом влажности)

Период посева, сутки	Контроль	Содержание нитроглицерина в почвенной смеси, мг/кг					
		1,0		0,3		0,1	
		М	эффект воздействия,%	М	эффект воздействия,%	М	эффект воздействия,%
0 (фон)	2,25	–	–	–	–	–	–
1	2,00	1,17	41,50	2,00	0,00	1,25	37,50
3	1,75	0,67	61,71 *↓	1,92	12,94	1,75	0,00
7	2,33	1,08	53,65 *↓	1,63	30,04	2,33	0,00
10	2,38	0,58	75,63 *↓	1,67	29,83	2,50	5,04
14	1,95	0,79	59,49 *↓	1,75	10,26	1,87	4,10

Примечание: в таблице № 1 полужирным шрифтом указано достоверное отклонение величины (*) и направленность эффекта (↓)

В процессе проведения исследований установлено, что наличие в грунте химагента только в максимальной концентрации оказывало негативное воздействие на микромицеты, вызывая достоверное снижение численности колоний микроорганизмов с 3-х по 14-е сутки исследований (таблица).

С учетом изложенного, концентрация нитроглицерина 1,0 мг/кг определена в качестве пороговой, а уровень вещества 0,3 мг/кг — подпороговым (максимально недействующим) по воздействию на почвенные грибы.

Резюмируя вышеизложенное, можно констатировать, что в выполненной работе микромицеты продемонстрировали свои биоиндикаторные свойства при поступлении в почву нитроглицерина, который существенно изменил их численность, нарушая тем самым процессы самовосстановления данной экосистемы.

Список литературы

1. Smith, J. G. Water quality criteria for nitroglycerin: final report. Oak Ridge National Laboratory / J. G. Smith. — Oak Ridge, TN. — 1986.
2. МР № 2609–82. Методические рекомендации по обоснованию ПДК химических веществ в почве. — М.: 1982. — изд. 2-е. — 57с.
3. Гончарук, Е. И. Гигиеническое нормирование химических веществ в почве. Руководство / Е. И. Гончарук, Г. И. Сидоренко. — М.: Медицина, 1986. — 132 с.
4. МУ № 1446–76. Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы. — Москва, 1977. — 47 с.
5. МУ 2.1.7.730–99. Методические указания по гигиенической оценке качества почвы населенных мест. — М.: 1999. — 25 с.
6. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Звягинцева Д. Г. — М.: Изд-во МГУ. — 1980. — 224 с.
7. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии: Учеб. пособ./ Под ред. Н. П. Елинова. — М.: Медицина. — 1988. — 208 с.
8. Бабьева, И. П. Биология почв / И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 336 с.

РЕАКЦИЯ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИЕ СОСТАВЫ

Мишенская Н.С., Стручкова И.В.

ННГУ им. Н. И. Лобачевского

Нижегородская область, как и некоторые другие территории Российской Федерации, относится к регионам с низким содержанием селена в почвах и водах, а, следовательно, и в потребляемой человеком пищевой продукции растительного происхождения. Одним из подходов в решении проблемы селенодефицита является внесение селена под сельскохозяйственные культуры, в виде селенита натрия как наиболее дешевого соединения или, значительно реже — в виде нуль-валентного селена, стабилизированного на различных органических полимерах (Голубкина и др., 2015, 2017).

При использовании селеносодержащих удобрений неизбежно их влияние не только на растение, но и на почвообитающие виды грибов. Кроме того, при наличии негативного воздействия на микрофлору почвы возможно снижение плодородия и продуктивности сельхозугодий, а также изменение баланса между сапротрофными и фитопатогенными видами (Степанова и др., 2012). Однако влияние селеносодержащих соединений на отдельные виды микромицетов в настоящее время изучено недостаточно.

Нами исследовалось влияние селена в форме неорганической соли Na_2SeO_3 , а также в форме Se^0 , стабилизированного хитозаном (состав $x\text{-Se}^0$, синтезированный в НИИ химии при ННГУ), на рост пяти видов широко распространенных микромицетов: *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus terreus*, *Trichoderma virens*. Для первых трех видов известно значительное количество патогенных

штаммов, способных переходить от сапротрофного существования к паразитизму и вызывать болезни сельскохозяйственных культур (Гагкаева и др. 2012). Последний вид, напротив, часто используют для улучшения роста и развития растений (Алимова, 2006).

Каждый вид микромицета культивировали на питательных средах (Чапека и Чапека — Докса), в которые вносили Na_2SeO_3 или $x\text{-Se}^0$ до конечной концентрации Se 100мкМ. В связи с наличием в составе $x\text{-Se}^0$ хитозана-стабилизатора, вводили вариант выращивания на среде с добавлением хитозана, но не селена (“второй контроль”). Оценивали морфологию и диаметр колоний, сухую массу 12-дневного мицелия, а также определяли содержание накопленного селена в 12-дневном мицелии путем мокрого сжигания и флюориметрии по МУК 4.1.033–95.

Установлено ингибирующее воздействие обеих форм селена на рост микромицетов: разнились колонии меньшего диаметра. Однако степень воздействия зависела от вида организма и вида вносимого селеносодержащего соединения. Ингибирование роста колонии в присутствии селена усиливалось: при внесении в форме селенита натрия — в ряду *A. alternata* < *A. niger* < *F. moniliforme* < *T. virens* < *A. terreus*; при внесении в форме препарата Se^0 , стабилизированного хитозаном — в ряду *A. alternata* < *A. terreus* < *T. virens* < *F. moniliforme* < *A. niger* (по отношению к контролю — колониям, росшим на среде без добавок), в ряду *T. virens* < *A. alternata* < *A. terreus* < *A. niger* < *F. moniliforme* (по отношению ко “второму контролю”).

По сравнению с контролем (без Se) сухая масса мицелия 12-суточных культур под действием селенита натрия снижалась у *A. terreus* более чем на 80%, но возрастала у *A. niger* почти на 60%. Под действием х-Se⁰ биомасса снижалась по сравнению с контролем и вариантом внесения хитозана (являющегося стабилизатором в препарате х-Se⁰), но без Se, у *A. alternata* (примерно на 70% и 20% соответственно), у *A. terreus* (приблизительно на 60% и 30% соответственно).

Культивирование микромицетов на твердой среде в присутствии различных форм селена изменяло не только скорость роста колонии, но и отражалось на морфологии ее поверхности. При наличии Se 100мкМ в среде роста у всех видов, за исключением *A. alternata*, отмечено окрашивание (покраснение) субстратного мицелия, свидетельствующее об отложении в нем частиц Se⁰. Кроме того, в колониях *F. moniliforme* и *T. virens* наблюдалось возникновение кольцевых зон.

Установлено, что все исследуемые виды способны накапливать селен примерно на одном уровне, в концентрации 2,5–3мг/г сухой массы мицелия. Исключением явился *A. niger*; концентрация селена в мицелии которого вдвое превышала данный показатель для остальных видов микромицетов — при культивировании на селените натрия она достигла 7 мг/г сухой массы мицелия, в варианте х-Se⁰ была ниже, 4 мг/г сухой массы мицелия.

Таким образом, при концентрации селена 100 мкМ, достигаемой как за счет Na₂SeO₃, так и за счет Se⁰, стабилизированного хитозаном, рост грибов ингибируется, причем степень ингибирования изменяется как от вида микромицета, так и от типа селенсодержащей добавки, что может быть связано с принципиальными отличиями в скорости роста,

метболизме и механизмах адаптации отдельных видов микроскопических грибов. Кроме того, микромицеты дают ответную реакцию не только на селен, но и на стабилизатор — хитозан, содержащийся в препарате х-Se. Выявленную в ряде случаев более высокую чувствительность к соединениям селена у видов грибов-сапротрофов и относительную устойчивость видов, часто являющихся фитопатогенами, следует принимать во внимание при использовании селеновых препаратов в сельхозпроизводстве, чтобы избежать негативных изменений микоценозов почв.

Список литературы:

1. Алимova Ф. К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*. Казанский гос. ун-т. Казань. 2006. 208 с.
2. Гагкаева Т. Ю., Ганнибал Ф. Б., Гаврилова О. П. Зараженность зерна пшеницы грибами *Fusarium* и *Alternaria* на юге России в 2010 году // Защита и карантин растений. 2012. №1. С. 37–41.
3. Голубкина Н.А., Кекина Е.Г., Надежкин С.М. Перспективы обогащения сельскохозяйственных растений йодом и селеном (обзор) // Микроэлементы в медицине. 2015. Т. 16. № 3. С. 12–19.
4. Голубкина Н. А., Синдирева А. В., Зайцев В. Ф. Внутрорегиональная вариабельность селенового статуса населения // Юг России: экология, развитие. 2017. Т. 12. № 1. С. 107–127.
5. Методические указания МУК 4.1.033–95. Химические факторы. Определение селена в продуктах питания. / Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 240 с.

ЭКОЛОГО-ЦЕНОТИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НАХОДКИ ГИГАНТСКОГО ТРУТОВИКА (MERIPILUS GIGANTEUS) В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

А.Г. Мясников, И.В. Змитрович, Н.И. Калиновская, С.П. Арефьев
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

Находку *Meripilus giganteus* (Fr.) P. Karst. (Polyporales, Agaricomycetes) на 60-й параллели на территории усадьбы Ближние Дубки (Санкт-Петербург) (Zmitrovich et al., 2019) следует признать необычной. В России этот вид был обнаружен лишь в ряде причерноморских регионов (Бондарцев, 1953; Бондарцева, 1998), подавляющее же большинство находок этого вида лежит между 43 и 58° с.ш. Наиболее северные находки вида известны также в районе Осло (60.10° с. ш. 10.20° в.д.) и Хельсинки (60.20° с. ш., 24.90° в. д.). В целом ареал вида охватывает южную часть умеренной зоны Голарктики, включая Японию; в Южном полушарии вид известен из Новой Зеландии (GBIF, 2020).

В зоне широколиственных лесов вид приурочен к различным листовым породам, среди которых предпочитает дуб (*Quercus*), граб (*Carpinus*) и бук (*Fagus*). Гриб развивается в комлевой части и на корнях живых

деревьев, но может развиваться на пнях и валеже. Вызывает белую и довольно активную гниль (Ryvarden, Melo, 2017).

Рукотворные дубовые рощи на северном берегу Финского залива существовали и в допетровскую эпоху. Посадки были приурочены к суглинистым грядам, образовавшимся в результате трансгрессии водоема, поскольку очищенные от ели дренированные площади с тяжелыми почвами в экологическом отношении приближаются к центральной части неморальных пойма — основному местообитанию дуба черешчатого (*Quercus robur*) в его оптимум-ареале. Во времена Петра I дубовые посадки были возобновлены и приумножены: от территории нынешнего Сестрорецка до Ольгино можно видеть одиночно растущие старые дубы и целые дубовые насаждения, из которых наибольшей известностью пользуется парк Дубки. Дубы в условиях

искусственного дренажа и устранения конкуренции со стороны осины, березы и сменяющей эти породы ели в приокеаническом секторе таежной зоны достигают большого возраста (250–300 лет), чему способствуют достаточно мягкие зимы.

Комлевая зона дуба черешчатого — объект конкуренции между разными видами базидиомицетов. За колонизацию комлевых морозобоин с дальнейшим проникновением в ядро конкурируют *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill и *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With. Колонизация заболони в комлевой области осуществляется прежде всего *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. — вид с повышенным конкурентным потенциалом. Область соприкосновения корней с грунтом — основная ниша таких видов, как *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray и *Meripilus giganteus*. Встает вопрос, почему севернее 58-й параллели присутствие *Meripilus giganteus* в комлевой зоне широколиственных деревьев практически не проявляется?

Восточноевропейские леса, лежащие южнее 58 параллели, характеризуются тем, что капиллярная кайма в летнее время не достигает корневых систем деревьев. Это — южный рубеж плакорного распространения ели. В этой связи можно предположить, что *Meripilus giganteus* — вид, чувствительный к обводнению почво-

грунтов. Проявление его на подходящем субстрате в условиях искусственно дренированной территории, в посадке с ее нарушенными потоками поколений фитопатогенов может быть объяснено с этих общих позиций. Однако тонкая дифференциация ниш *Meripilus giganteus* и перечисленных видов-конкурентов требует дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Zmitrovich et al., 2019 A northern record of *Meripilus giganteus* (Fr.) P. Karst., 1882 (Polyporales, Agaricomycetes) from Dubki Park, Saint Petersburg, Russia
2. Bondartsev AS (1953) Polyporaceae of the European part of USSR and Caucasus. Academy of Science of the USSR, Moscow/Leningrad 1006 pp. [in Russian].
3. Bondartseva MA (1998) Definitorium fungorum Ros-sicum. Aphyllophorales 2. Albatrellaceae, Aporpiaceae, Boletopsidaceae, Bondarzewiaceae, Corticiaceae (species porioideis), Fistulinaceae, Ganodermataceae, Lachnocladiaceae (species tubuliferae), Phaeolaceae, Polyporaceae (genera poroidea), Poriaceae, Rigidoporaceae. Nauka, Saint Petersburg, 398 pp. [in Russian].
4. Ryvarden L, Melo I (2017) Synopsis fungorum volume 37: poroid fungi of Europe. Fungiflora, Oslo, 455 pp.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ КАК ИНДИКАТОР ТИПА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ

Никитин Д.А.¹, Иванова Е.А.¹, Тхакахова А.К.¹, Ксенофонтова Н.А.^{1,2}, Железова А.Д.¹, Кутовая О.В.¹,

¹Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва, ²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Интенсивное воздействие орудиями земледелия в процессе традиционной обработки (вспашки) приводит к потере органического вещества почвы и эрозии (Киришин, 2014). Кроме того, вспашка существенно снижает биоразнообразие агроценозов (Кутовая и др., 2018; Brown et al., 2019), в том числе микробиоты (Semenov et al., 2018). Это негативно сказывается на супрессивной активности почв по отношению к фитопатогенам (Van agtmaal et al., 2018). Таким образом, следствием длительного применения традиционной обработки почвы может являться спад урожайности полей и рост частоты заболеваний растений (Stewart, Globig, 2016). Переход к экологизации земледелия привел к распространению альтернативных технологий с минимальным воздействием на почву, в частности, no-till (Киришин, 2014). Однако минимальная обработка почвы имеет ряд недостатков, главными из которых являются повышенная засоренность посевов вредными растениями и фитопатогенами (Van Agtmaal et al., 2018), а также увеличение пестицидных нагрузок. Поскольку оценки пользы и вреда применения той или иной обработки почвы противоречивы, в них следует разобраться, используя методы микробиологии.

Микроорганизмы являются наиболее быстро реагирующей биотой почв на разнообразные внешние воздействия, в том числе и на сельскохозяйственную обработку поля (Wang et al., 2017; Semenov et al., 2018). Изменения в численном и таксономическом составе прокариот и микробиоты могут служить индикатором заболеваний растений. Ввиду того, что большинство фитопатогенов являются грибами (Stewart, Globig, 2016), мы уделили внимание именно этой группе микробиоты.

Охарактеризованы сообщества культивируемых микроскопических грибов в обыкновенных черноземах Ставропольского края (поля ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ», 45°07'48" с. ш. 42°01'39" в. д.), обрабатываемых по технологии no-till и традиционной вспашке с оборотом пласта для вариантов с различными сельскохозяйственными культурами (соя, кукуруза, подсолнечник, озимая пшеница) и при внесении/отсутствии минеральных удобрений.

Таксономический состав культивируемых микроскопических грибов определяли методом микробиологического посева на агаризованные среды (Звягинцев, 1991). В стерильных пробирках готовили суспензии образцов для сред Чапека (ЧА), голодного агара (ГА),

крахмало-аммиачного агара (КАА) и среды Гетчинсона (ГЕ) с целлюлозой. Десорбцию грибных пропагул от почвенных частиц осуществляли путем обработки почвенной суспензии на вортексе «MSV-3500» (3500 об/мин, 5 мин). Повторность каждого варианта посевов 6-кратная. Для подавления роста бактерий в питательные среды добавляли стрептомицин (100 мг/л). Учет численности выросших колониеобразующих единиц (КОЕ) микромицетов осуществляли на 7, 14 и 20-е сутки. Идентификацию штаммов проводили по определителям для разных групп грибов (Domsch et al., 2007; Seifert, Gams, 2011). Таксономическую принадлежность отдельных штаммов дополнительно проверяли по анализу участков ITS рДНК. Выделение ДНК осуществляли по стандартной методике (Глушакова и др., 2011). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с использованием ПЦР-смеси «ScreenMix» («Евроген», Россия) с праймерами ITSf1 и NL4 («Евроген», Россия). ПЦР-продукты были очищены и секвенированы по методу Сэнгера компанией «Синтол» (Москва, Россия) с использованием набора реактивов BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», USA). Анализ продуктов реакции проводили на секвенаторе Applied Biosystems 3130l Genetic Analyzer с использованием праймера ITS1f.

В исследованных образцах преобладали олиготрофные, сапротрофные и целлюлолитические микромицеты. Наибольшей численностью (от 3.4×10^4 до 8.2×10^4 КОЕ/г почвы) и таксономическим разнообразием (до 8 видов) характеризовался род *Penicillium*. Высокая численность целлюлолитиков (10^3 – 10^4 КОЕ/г почвы для образца) выявлена в почвах с традиционной обработкой под соей, озимой пшеницей и no-till с кукурузой вне зависимости от наличия/отсутствия удобрений. Тип обработки почвы не влиял на количество фитопатогенных микромицетов. Численность экрисотрофной группы незначительна (10^1 – 10^2 КОЕ/г почвы для образца). Основными эпифитами в составе сообщества микромицетов являлись виды *Trichotecium roseum* и *Aureobasidium pullulans*, численность которых достигала 10^3 КОЕ/г почвы. Количество зачатков и разнообразие условно-патогенных микромицетов заметно больше в почвах с традиционной обработкой (до 4.1×10^3 КОЕ/г почвы и до 11 видов), по сравнению с вариантами no-till (до 8.0×10^2 КОЕ/г почвы и до 11 видов). Таксономическое разнообразие микроскопических грибов больше в почвах полей с удобрениями (от 10 до 30 видов), чем без них (от 7 до 27 видов).

Общая численность культивируемых микромицетов в посевах исследованных почв составляла от 2.5×10^3 до 5.9×10^4 КОЕ/г почвы. Минимальные значения выявлены на среде ЧА и ГЕ, а максимальные — на ГА. Наибольшим видовым разнообразием характеризовались роды: *Penicillium* и *Aspergillus* (по 8 видов), *Acremonium*, *Trichoderma* и *Cladosporium* (по 3 вида). Максимальная встречаемость (хотя бы на одной из использованных сред) выявлена у *Penicillium janthinellum* (в 16 из 17 вариантов образцов), *Acremonium strictum* (в 14 образцах), *Fusarium solani* и *Aspergillus fumigatus* (в 11 образцах), *Clonostachys rosea*, *Penicillium aurantiogriseum* и *Penicillium verrucosum* (в 10 образцах), *Trichoderma harzianum* (в 9 образцах). Ввиду обильной численности штаммов этих видов на среде ГЕ, можем заключить,

что они обладают выраженной целлюлолитической активностью. Фитопатогенными свойствами из данного списка обладают лишь *Fusarium solani* и *Cladosporium cladosporioides*.

В исследованных образцах по обилию, численности и таксономическому разнообразию преобладают целлюлолитические (представители родов *Chaetomium*, *Doratomyces*, *Humicola*, *Oidiodendron*, *Rhizopus*, *Sacrocladium*, *Trichoderma*, *Zygorhynchus*) и олиготрофные/сапротрофные (виды родов *Aspergillus*, *Cunninghamella*, *Eurotium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pseudogymnoascus*, *Talaromyces*, *Umbelopsis*) микромицеты. Численность экрисотрофной группы невысока (10^1 – 10^2 КОЕ/г почвы для каждого из видов). Численность эпифитов значительна (до 10^3 КОЕ/г почвы) лишь благодаря *Trichotecium roseum* и *Aureobasidium pullulans* в образцах полей с традиционной обработкой под кукурузой вне зависимости от наличия удобрений. Колонии экрисотрофов (*Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum nigrum*, *Monilia geophila*, *Trichotecium roseum*) единичны. Чрезвычайно редко с минимально-выявляемой численностью (10^1 – 10^2 КОЕ/г почвы) встречались энтомопатогенные/нематодопатогенные микромицеты родов *Clonostachys*, *Metarhizium*, *Pochonia*.

Индекс Шеннона варьировал от 1.39 до 3.29. Его минимальные значения отмечены в варианте поля no-till под неудобренной соей, а максимальные — для делянки no-till под удобренной кукурузой.

Таким образом, микроскопические грибы можно использовать в качестве чувствительного индикатора типов сельскохозяйственной обработки почвы. На вспаханных полях доминируют сапротрофные, а на делянках no-till-целлюлолитические микромицеты. Наличие минеральных удобрений способствует увеличению таксономического разнообразия микромицетов. Вид сельскохозяйственной культуры оказывают мощное селективное действие на численность и состав микобиоты.

Список литературы

1. Глушакова А.М., Качалкин А.В., Чернов И.Ю. Особенности динамики эпифитных и почвенных дрожжевых сообществ в зарослях недотроги железконосной на перегноино-глеевой почве // Почвоведение. 2011. № 8. С. 966–972.
2. Кирюшин В. И. Наследие В.Р. Вильямса и современные проблемы агропочвоведения // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2014. — № 1.
3. Кутовая, О. В., Гребенников, А. М., Тхакахова, А. К., Исаев, В. А., Гармашов, В. М., Беспалов, В. А., ... & Белобров, В. П. (2018). Изменение почвенно-биологических процессов и структуры микробного сообщества агрочерноземов при разных способах обработки почвы. Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева, (92), 35–61.
4. Brown, C., Helgason, T., Dytham, C., & Moir, J. (2019). Distance-decay patterns overshadow effects of long-term fertilization and tillage on microbial community structure in agricultural soils. Access Microbiology, 1(1A).
5. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of soil fungi, 2nd taxonomically revised edition by W. Gams. Eching: IHW-Verlag, 2007. 627 p.

6. Seifert, K. A., & Gams, W. (2011). The genera of Hyphomycetes—2011 update. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 27, 119.
7. Van Agtmaal, M., Straathof, A. L., Termorshuizen, A., Lievens, B., Hoffland, E., & de Boer, W. (2018). Volatile-mediated suppression of plant pathogens is related to soil properties and microbial community composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 117, 164–174.
8. Wang, Y., Li, C., Tu, C., Hoyt, G. D., DeForest, J. L., & Hu, S. (2017). Long-term no-tillage and organic input management enhanced the diversity and stability of soil microbial community. *Science of The Total Environment*, 609, 341–347.
9. Stewart P., Globig S. *Phytopathology in Plants*. — Apple Academic Press, 2016.
10. Semenov M. V., Chernov T. I., Tkhakakhova A. K., Zhelezova A. D., Ivanova E. A., Kolganova T. V., Kutovaya O. V. (2018). Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century. *Applied Soil Ecology*, 127, 8–18.

ASPERGILLUS NIGER В ГЕОМИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Власов Д.Ю.¹, Зеленская М.С.¹, Сазанова К.В.², Франк-Каменецкая О.В.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

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

Гриб *Aspergillus niger* считается космополитным видом. Он встречается на многих субстратах в различных экологических условиях, хорошо известен как оппортунистический патоген человека. *A. niger* — один из основных модельных объектов в микробиологии, биохимии и генетике, активно используется в биотехнологических целях. Он достаточно хорошо изучен на уровне генома, транскриптома, протеома и метаболома (Vadlapudi et al., 2017). Наиболее известным биохимическим свойством *A. niger* является его способность выделять низкомолекулярные органические кислоты; гриб используется для промышленного производства лимонной кислоты (Almoussa et al., 2018; Ozdal, Kurbanoglu, 2019).

Одним из местообитаний *A. niger* является каменистый субстрат, где этот гриб входит в состав литобионтного сообщества (Sturm et al., 2015; Rusakov et al., 2016; Vlasov et al., 2020). Вступая в реакцию с минеральным субстратом, продуцируемые грибом органические кислоты способны вызывать изменение его поверхности и приводить к образованию вторичных минералов. Изучение этих процессов представляет большой интерес с точки зрения трансформации каменных материалов (природных и искусственных), а также процессов биоремедиации. Данное направление относится к области геомикологии, которая занимается изучением роли грибов в геологических процессах, в том числе в современном минералообразовании.

Эффективным инструментом исследования взаимодействия микроорганизмов с минеральным субстратом является создание экспериментальных моделей. Опираясь на накопленный опыт в данной области, нами были созданы модели, позволяющие изучить роль *A. niger* в минералообразовании на поверхности различных минералов и горных пород. Эксперименты проводились в жидкой среде Чапека-Докса и в условиях влажной камеры (Rusakov et al., 2016). Кроме *A. niger* в литобионтную систему вводили бактерии *Bacillus subtilis*, изолированные с каменистого субстра-

та. Продолжительность экспериментов варьировала от нескольких дней до 5 месяцев. Все опыты проводили в трех повторностях. Образующиеся в процессе экспериментов отложения, содержащие продукты кристаллизации и биопленки, исследовали непосредственно на подстилающем минеральном субстрате. Фазовый состав осадков определяли с использованием рентгенофазового анализа; морфологию синтезированных кристаллов анализировали в сканирующем электронном микроскопе с контролем элементного состава по EDXS спектрам. Исследование проводили в ресурсных центрах СПбГУ: «Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Нанотехнологии», «Микроскопии и микроанализа» с использованием микроскопов Tescan MIRA3 LMU и Jeol JCM–5000 Neoscope, ZeissSupra 40MP, TM 3000 (НИТАСНИ, Япония) с приставкой OXFORD EDXS. Диапазон увеличений: от 100× до 10000×.

Установлено, что биогенная кристаллизация оксалатов под действием *A. niger* может происходить на поверхности различных горных пород и минералов: карбонатов, фосфатов, оксидов и силикатов. Показано, что среди факторов микогенной минерализации метаболизм гриба, существенно зависящий от особенностей штамма и условий культивирования, играет важнейшую роль. Химизм среды может способствовать как активизации метаболизма *A. niger*, в т.ч. повышать продукцию органических кислот, так и тормозить этот процесс, что, наряду со свойствами подстилающего минерального субстрата, существенно сказывается на морфогенетической картине биогенной кристаллизации. Среди компонентов среды, влияющих на развитие и метаболизм *A. niger*, можно выделить, прежде всего, концентрацию сахара (глюкозы) и форму азота. Кроме того, существенное влияние на кислотопродукцию оказывает присутствие в среде карбоната кальция, а также тяжелых металлов, таких, например, как цинк и медь.

Кристаллизация оксалатов под действием *A. niger* происходит на различных субстратах в диапазоне pH от 2.5 до 5.5. На примере оксалатов кальция, образу-

ющихся на поверхности кальцитового мрамора, показано, что под действием *A. niger* оксалатная кристаллизация в олиготрофных условиях влажной камеры лимитируется недостатком питательных веществ и идет на порядок медленнее, чем в жидкой среде. Влияние подстилающего субстрата на процесс микогенной оксалатной кристаллизации определяется его элементарным и минеральным составом, а также параметрами, определяющими растворимость субстрата. Изучение синтезированных при участии гриба *A. niger* аналогов изоструктурных минералов группы гумбольтина (гумбольтина, глушенскита, линбергита и двуводного оксалата цинка) на поверхности различных минералов (биотита, пирротина, сидерита, магнезита, тодорокита, кутногорита, смитсонита), показало, что они являются твердыми растворами с общей формулой $(\text{Fe}, \text{Mg}, \text{Mn}, \text{Zn})\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Как показали проведенные эксперименты, метаболизм *A. niger* и метаболизм ассоциации *A. niger* и *B. subtilis* существенно различается. Взаимовлияние гриба и бактерии зависит от условий культивирования (жидкая среда или влажная камера, концентрации глюкозы, pH среды). В ассоциации *A. niger* + *B. subtilis* можно наблюдать образование оксалатов или карбонатов кальция в зависимости от меняющихся условий среды. При этом морфология кристаллов существенно зависит от состава метаболитов, продуцируемых грибом и бактерией. Таким образом, результаты экспериментов с *A. niger* надо с осторожностью использовать при интерпретации процессов, происходящих в природных литобионтных системах при участии широких ассоциаций микроорганизмов.

Полученные результаты могут быть использованы при разработке экологически безопасных природоподобных технологий детоксикации тяжелых металлов с использованием микроскопических грибов, являющихся активными продуцентами щавелевой кислоты.

Исследования поддержаны РФФИ (проект 19–17–00141).

Список литературы

1. Vadlapudi V., Borah N., Yellusani K. R., Gade S., Reddy P., Rajamanikyam M., Vempati L.N. S., Satya P.G., Chopra P., Upadhyayula S.M., Amanchy R. 2017. *Aspergillus* Secondary Metabolite Database, a resource to understand the Secondary metabolome of *Aspergillus* genus. *Sci Rep.* 7:7325.
2. Almousa A.A., El-Ghany A.M.N., Ashour E.H. 2018. Citric Acid Fermentation by *Aspergillus niger*. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences.* 5 (4): 20–37.
3. Ozdal M., Kurbanoglu E.B. 2019. Citric Acid Production by *Aspergillus niger* from Agro-Industrial By-Products: Molasses and Chicken Feather Peptone. *Waste and Biomass Valorization.* 10: 631–640.
4. Sturm E.V., Frank-Kamenetskaya O., Vlasov D., Zelenskaya M., Sazanova K., Rusakov A., Kniep R. 2015. Crystallization of calcium oxalate hydrates by interaction of calcite marble with fungus *Aspergillus niger*. *American Mineralogist.* 100: 2559–2565.
5. Rusakov A.V., Vlasov A.D., Zelenskaya M.S., Frank-Kamenetskaya O.V., Vlasov D.Yu. The crystallization of calcium oxalate hydrates formed by interaction between microorganisms and minerals. In book: *Biogenic — Abiogenic Interactions in Natural and Anthropogenic Systems.* Editors: Frank-Kamenetskaya Olga V., Panova Elena G., Vlasov Dmitry Yu. Springer. 2016. 357–377.
6. Vlasov D.Yu., Panova E.G., Zelenskaya M.S., Vlasov A.D., Sazanova K.V., Rodina O.A., Pavlova O.A. Biofilms on granite rapakivi in natural outcrops and urban environment: biodiversity, metabolism and interaction with substrate. In book: *Processes and Phenomena on the Boundary Between Biogenic and Abiogenic Nature.* Editors: Frank-Kamenetskaya Olga V., Vlasov Dmitry Yu., Panova Elena G., Lessovaia Sofia N. Springer, 2020. 535–559.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ИЗ ОБРАЗЦОВ ПОЧВЫ ТЕРРИТОРИИ СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ

Половец Н.В.¹, Суркова Р.С.¹, Шергина О.А.¹, Буй Т.Л.А.², Липницкий А.В.¹, Шаров Т.М.¹

¹Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

²Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Вьетнам

Актуальность

Климатогеографические условия Вьетнама благоприятны для развития большого количества разнообразных микроскопических грибов. Территорию Вьетнама относят к эндемичным регионам для возбудителей гистоплазмоза и таларомикоза (пенициллиоза) [1, 2].

Гистоплазмоз — особо опасная инфекция, возбудителями которой являются представители вида *Histoplasma capsulatum* — грибы, обладающие диморфизмом. Заражение происходит при ингаляции конидий. Легочная форма заболевания проявляется ознобом, лихорадкой, кашлем с гнойной мокротой, головной болью. При диссеминированном гистоплазмозе также поражается кожа, слизистые оболочки и кишечник [3, 4].

Таларомикоз (пенициллиоз) — микоз, вызываемый диморфным грибом *Talaromyces (Penicillium) marneffei*. Данное заболевание является причиной высокой смертности у пациентов с синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД) [5]. Развивается после вдыхания микроконидий и проявляется поражениями кожи и многих органов, приводя к сердечно-легочной недостаточности. Симптомы заболевания включают лихорадку, анорексию, гепатоспленомегалию и лимфаденопатию [6].

На базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора функционирует референс-центр по мониторингу за возбудителями ООМ (Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 01.12.2017 г. № 1116). В рамках реализации Распоряжения Правительства № 1789-р от 19.08.2017 г. по оказанию научно-методической и материально-технической поддержки СРВ в целях противодействия угрозам инфекционных болезней и рискам, связанным с опасными для здоровья химическими веществами, специалистами референс-центра совместно с сотрудниками Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра проводилась работа по выявлению природных очагов возбудителей микозов на территории Вьетнама.

Цель исследования — выявление естественных резервуаров диморфных микромицетов в почве на территории СРВ.

Материалы и методы

Отбор и исследование почвы проводили стандартными методами [7, 8, 9]. Всего было исследовано 50 проб почвы из провинций Хынгйен (Hung Yen), Хайзыонг (Hai Duong), Бакзянг (Bac Giang), Бакнинь (Bac Ninh). Образцы параллельно высевали на две модификации агара Сабуро (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия). В первом варианте использовали агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом, во втором с хлорамфениколом и циклогексимидом. Посевы инкубировали при 27 °С

в течение трех недель. Выросшие колонии отсеивали на агар Сабуро с глюкозой без добавления антибиотиков. Нативные микропрепараты просматривали с помощью светового микроскопа при увеличении х400. Идентификацию микромицетов осуществляли на основании культурально-морфологических признаков [10] и методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Подготовку проб для масс-спектрометрии осуществляли по методу Tagimoto N. и соавт. [11]. Масс-спектры регистрировали на приборе Axima Confidence (Shimadzu, Япония).

Все работы с микромицетами проводили в соответствии с СП 1.3.3118–13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» [12] и СП 1.3.2322–08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» [13].

Результаты и обсуждение

Выделение возбудителей таларомикоза и гистоплазмоза из почвы сопряжено с целым рядом трудностей. Это связано с тем, что микромицеты II группы патогенности отличаются более медленным ростом по сравнению с условно-патогенными грибами, концентрация которых в почве весьма значительна. Для подавления роста нецелевых представителей микробиоты использовали агар Сабуро с двумя вариантами добавок. В первом варианте применяли хлорамфеникол, необходимый для подавления роста микроорганизмов бактериальной природы, во втором варианте — хлорамфеникол и циклогексимид, который подавляет рост большинства условно-патогенных грибов, но не влияет на ростовые свойства *H. capsulatum* [10].

На агаре Сабуро с хлорамфениколом видимый рост колоний грибов наблюдали со 2 суток инкубации. Средняя численность микромицетов в пробах составила 3–4 тыс. КОЕ/г. При посеве образцов на агар Сабуро с хлорамфениколом и циклогексимидом видимый рост единичных колоний фиксировали лишь на 5–10 сутки инкубации, при средней концентрации не превышающей 270 КОЕ/г.

Идентификация микромицетов по культурально-морфологическим признакам выявила условно-патогенные грибы, относящиеся к 7 родам: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichophyton*, *Exophiala*, *Mucor*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*. Видовую принадлежность грибов подтвердили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. В группу доминирующих видов вошли *Aspergillus spp.* и *Penicillium spp.*, которые составили более 50% от общего числа выделенных колоний. Штаммы возбудителей таларомикоза и гистоплазмоза выделить не удалось.

Тем не менее нами подтверждена целесообразность использования селективной питательной среды агара Сабуро с хлорамфениколом и циклогексимидом для выделения возбудителей особо опасных микозов (ООМ) из образцов почвы. Добавление циклогексими-

да приводит к угнетению роста большинства почвенных микромицетов и повышает вероятность выделения единичных колоний возбудителей ООМ до начала спороношения и активного роста условно-патогенных грибов на всей поверхности агара.

Список литературы

1. Липницкий А.В., Маркин А.М., Суркова Р.С., Викторов Д.В., Топорков А.В. Гистоплазмоз и пенициллез (таларомикоз) во Вьетнаме / Успехи медицинской микологии. — 2019. — №20. — С. 358–361.
2. Salzer H.J.F., Burchard G., Cornely O.A. et al. Diagnosis and management of systemic endemic mycoses causing pulmonary disease // *Respiration*. — 2018. — Vol. 96(3). — P. 283–301. — doi: 10.1159/000489501.
3. Baker J., Setianingrum F., Wahyuningsih R., Denning D.W. Mapping histoplasmosis in South East Asia — implications for diagnosis in AIDS // *Emerg. Microbes. Infect.* — 2019. — Vol. 8(1). — P. 1139–1145. — doi: 10.1080/22221751.2019.1644539.
4. Oladele R. O., Ayanlowo O. O., Richardson M. D., Denning D. W. Histoplasmosis in Africa: An emerging or a neglected disease? *PLoS Negl Trop Dis*. — 2018. — Vol. 12(1). — P.e0006046.
5. Cuomo C. A., Shea T., Nguyen T. et al. Complete genome sequences of two *Talaromyces marneffei* clinical isolates from Northern and Southern Vietnam // *Microbiol. Resour. Announc.* — 2020. — Vol. 9. — P.e01367–19. — doi: 10.1128/MRA. 01367–19.
6. Chastain D. B., Henaio-Martinez A. F., Franco-Parades C. Opportunistic invasive Mycoses in AIDS: cryptococcosis, histoplasmosis, coccidioidomycosis and talaromycosis. *Curr Infect Dis Rep*. — 2017. — Vol. 19(10). — P. 36.
7. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов / Медицина для всех. — 2005. — 196 с.
8. Васильева Н.В. Микологические культуральные исследования: методические рекомендации / Санкт-Петербург. — 2013. — 56 с.
9. Кашкин П. Н., Лисин В. В. Практическое руководство по медицинской микологии / Л.: Медицина, 1983. — 192 с.
10. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Изд. Мир. — 2001. — 470 с.
11. Tarumoto N., Sakai J., Kodana M., Kawamura T., Ohno H., Maesaki S. Identification of disseminated cryptococcosis using MALDI-TOF MS and clinical evaluation // *Med. Mycol. J.* — 2016. — Vol. 57(3). — P. E41–6. — doi: 10.3314/mmj. 16–00002.
12. Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности). СП 1.3.3118–13 от 28.11.2013 года.
13. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. СП 1.3.2322–08 от 28.01.2008 года.

ДЕСТРУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВ С ПОЗИЦИЙ СИМБИОТРОФИЗМА

Стороженко В.Г.

Институт лесоведения РАН

Как известно симбиотрофизм — общепринятое в микологии понятие, определяющее обоюдную трофотопическую выгоду двух организмов при совместном функционировании. Например, грибы, формирующие микоризу древесных пород. На наш взгляд это же понятие вполне может быть применено для характеристики совместного функционирования организмов более высокого статуса в объеме структур ценотического уровня лесного биогеоценоза. Этот на первый взгляд спорный тезис может быть принят при изучении поведения грибов дереворазрушающего комплекса (ДРК) в генезисе коренных девственных эволюционно сформированных устойчивых лесных сообществ.

Общеизвестен и, надо надеяться, общепризнан факт обязательного участия грибов дереворазрушающего комплекса (ДРК) биотрофов, поражающих живые деревья, и ксилотрофов, разлагающих древесный отпад, в филогенетической динамике эволюционно развивающихся лесных сообществ (Стороженко, 2014). Эта группа грибов формирует одно из звеньев общей цепи круговорота вещества и энергии лесных сообществ, в котором грибы могут оцениваться с нескольких эволю-

ционных позиций. Во-первых, существует общепринятые позиции пищевого питания ДРГ на конкретном пищевом субстрате, например, фрагменте древесного отпада, на котором конкретный гриб выступает или как факультативный паразит, или как факультативный сапротроф, или как облигатный сапротроф. Но та же группа ДРГ грибов может оцениваться с биоценологических позиций в составе лесного микоценоза (Стороженко, 2013), когда она как структура ценотического статуса, как один из органов лесного сообщества участвует в его филогенезе в составе деструктивного звена общего баланса биомассы и вполне может оцениваться с позиций симбиотрофизма. С одной стороны эта группа грибов необходима лесному сообществу как одна из структур его организма, с другой стороны фитоценоз лесного сообщества, а конкретно древостой и древесный отпад являются объектом их жизнедеятельности, а вместе эти два консорта в числе других консортов составляют единый сбалансированный организм в общем стремлении лесного сообщества к состоянию наивысшего баланса или климаксу. Этот баланс является фундаментальной парадигмой устойчивости лесов.



Вся цепь совместного функционирования древостоя фитоценоза и дереворазрушающих грибов представляет собой основную транспортную артерию, по которой осуществляется круговорот вещества и энергии в лесном сообществе (рисунок). В представленной схеме нет одной главной входящей — энергии Солнца, без которой невозможна работа этой цепи.

Формирующее звено. В устойчивом эволюционно сформированном лесу биомасса фитоценоза, а в нашем случае биомасса древостоя фитоценоза, поддерживается на постоянном уровне долгие годы в пределах возрастных величин коренной породы с определенными колебаниями структурных параметров древостоев во флуктуационном поле. Это звено цепи круговорота определяется как формирующее биомассу древостоя. Уже на этом этапе накопления биомассы дереворазрушающие грибы необходимы лесному сообществу как его эндогенный «инструмент», осуществляющий в определенных объемах и с определенной скоростью отпад части биомассы из состава древостоя в структуру древесного отпада. Группа грибов биотрофного комплекса поражает деревья разного возраста с увеличением величины поражения как в числовом, так и по объемном выражении к предельному возрасту коренной породы, первому поколению. В результате поражения развиваются гнили стволов, что приводит к гибели деревьев и формированию сухостоя, то есть усохших деревьев текущего древесного отпада в составе древостоя — древесной фракции мортмассы лесного сообщества. Величина поражения деревьев первого поколения в коренных устойчивых лесных сообществах может достигать 50–80% от числа всех деревьев в первом поколении. Причем соотношение гнилей стволов деревьев деструктивного и коррозионного типов в общем гнилевом поражении в коренных девственных лесах как правило приближается к 1. Влияние присутствия гнилей, вызванных грибами биотрофного комплекса, в стволах живых деревьев на их поступление в структуру валежа подтверждается высокой степенью связи этих предикторов — $r=0,8$. Общее число дереворазрушающих биотрофов в устойчивых коренных лесах во много раз меньше, чем ксилотрофов, разлагающих древесный отпад.

С биоценологических функциональных позиций ГДК можно рассматривать как симбиотрофный организм, осуществляющий отпад необходимого сообществу объема биомассы в структуру мортмассы в пределах формирующего звена общей цепи круговорота биомассы лесного сообщества.

Деструктивное звено общей цепи круговорота биомассы включает в себя два блока: 1-й блок — физический, мортмасса древесного отпада; 2-й блок — функциональный, разложение древесного отпада.

Грибной дереворазрушающий комплекс в этом звене цепи осуществляет основную эволюционную функцию деструкции биомассы. При переходе живых деревьев в древесный отпад вместе с валежом грибы биотрофного комплекса переходят в комплекс ксилотрофов. Некоторые активные биотрофы, такие как, например, *Heterobasidion parviporum* N.&K. (корневая губка на ели) могут функционировать на мертвом субстрате как ксилотрофы до 15–20 лет. Древесный отпад в коренных устойчивых лесах по объемным показателям имеет различные величины в зависимости от динамического состояния лесного сообщества. В фазах демуляции эти объемы незначительны — 10–20%, в фазах дигрессии могут достигать половины запаса древостоя.

Процесс разложения древесного отпада во времени непрерывен и в физических величинах определяется процентным соотношением потери веса древесины стволов валежа при разложении ее дереворазрушающими грибами (Krankina, Harmon, 1995; Шорохова, Шорохов, 1999; Шорохова, Гирфанов, 2004 и др.). Нами разработана временная шкала стадий разложения древесного отпада, градуированная по морфологическим характеристикам стволов валежа, разлагающихся ГДК (Стороженко, 1990). По временным датировкам процесса разложения древесины эти два метода практически совпадают. Стволы валежа в еловых биогеоценозах южной тайги разлагаются до состояния полного разложения за период 40–50 лет, когда в них не остается не разложенных грибами лигнина и целлюлозы. Если процесс поступления определенного объема древесного отпада из структуры древостоя фитоценоза в структуру мортценоза непрерывен во времени, то так же должен быть непрерывен в том же временном пространстве процесс разложения такого же по объему древесного отпада. Эти два процесса в коренных устойчивых эволюционно сформированных лесных сообществах должны быть согласованы. В этом случае и процесс накопления биомассы фитоценозом, и процесс отпада определенного объема биомассы в структуру древесного отпада, и процесс разложения этой биомассы древесного отпада ГДК можно рассматривать как единый, сбалансированный во временном пространстве организм лесного биогеоценоза, в котором все его консорты объединены симбиотрофическими связями и эти связи взаимообусловлены. Этот тезис является общей парадигмой устойчивости лесов и в наибольшей степени присущ лесам климаксовых фаз динамики.

Трофическая цепь в круговороте биомассы лесного сообщества не имеет начала и не имеет конца и если исключить из этой цепи какой — либо консорт, то обязательно возникнут риски всплеск развития других каких — то консортов, как это мы постоянно наблюдаем в природных экосистемах.

Список литературы

1. Стороженко В.Г. Датировка разложения валежа ели // Экология. 1990. N. 6. С. 66–69.
2. Стороженко В.Г. Микоценоз и микоценология. М.: Гриф и К., 2013. 191 с.
3. Стороженко В.Г. Эволюционные принципы поведения дереворазрушающих грибов в лесных биогеоценозах. М.: Гриф и К., 2014. 180 с.
4. Шорохова Е.В., Шорохов А.А. Характеристика классов разложения древесного детрита ели, березы и осины в ельниках подзоны средней тайги // Труды СПбНИИЛХ. 1999. Вып. 1. С. 17–23.
5. Шорохова Е.В., Гирфанов М.И. Ксилолиз крупных древесных остатков в коренных среднетаежных ельниках // Грибные сообщества лесных экосистем. 2004. Т. 2. С. 255–285.
6. Krankina O.N., Harmon M. E. Dynamics of the dead wood carbon pool in northern-western Russian boreal forests // Water, Air and Soil Pollution. 1995. V. 82. P. 227–238.

РОЛЬ МИКРОМИЦЕТОВ В УСТОЙЧИВОСТИ КОНСОРЦИЙ С ДОМИНИОВАНИЕМ ВОДОРΟΣЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Суандзара Б.Р.¹, Попкова А.В.¹, Мазина С.Е.^{1,2}

Российский Университет Дружбы Народов, Москва

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Одним из самых важных источников энергии в современном мире является нефть, доля которой занимает около 33%. Она использовалась в основном для освещения, но с начала XX века начала играть важную роль в производстве энергии. Хотя нефтяные месторождения в основном находятся в ограниченных районах и неравномерно распределены по всему земному шару, ее можно добывать не только на суше, но и в море. Нефтяная и нефтедобывающая промышленность являются источниками загрязнений окружающей среды, причем процессы самоочистки от нефтезагрязнений продолжают десятилетиями. Для биоремедиации загрязненных территорий используют способность микроорганизмов к трансформации или деградации компонентов нефти. В основном применяют углеводородокисляющие микроорганизмы, преимущественно бактерии.

Разработано большое количество препаратов для сорбции нефти и ее биодegradации в основном на открытой поверхности воды. Существуют проблемы с биодegradацией нефтяных загрязнений в толще воды и в донных отложениях. При разливах нефти стараются не допустить или минимизировать попадание нефти в прибрежные экосистемы, избежать загрязнения грунтов. Это не всегда удается. Загрязненный грунт чаще всего удаляется или заменяется свежим. Проблема восстановления таких экосистем крайне актуальна.

Отдельной проблемой является загрязнение вод и прибрежных территорий при эксплуатации морских платформ, эстакад и отсыпанных островов, нефтяных терминалов в портах и нефтегазопроводов, не исключено перманентное или периодическое загрязнение водных и прибрежных экосистем. Более частной проблемой является загрязнение дельт и эстуариев рек, зоны литорали, береговой линии, где происходит периодическое затопление, перенос загрязнений с поверхности воды на почву, породу и растительность, и длительное сохранение их там. Проблема осложняется сезонными изменениями, поскольку при низких температурах биодegradация приостанавливается. Очень сложно найти виды биодеструкторы, активные в широком диапазоне температур, виды-термотолеранты и

психрофилы. Загрязнения нефтью и нефтепродуктами уникальных экосистем дельт и эстуариев, сложно поддаются деградации вследствие структурных и функциональных особенностей сообществ и экосистем.

Перспективным направлением предотвращения загрязнения нефтью и нефтепродуктами является микробиологическое разрушение, поскольку одни виды в сообществе способны потреблять продукты метаболизма других видов, обеспечивая устойчивое функционирование сообщества. Для очистки от нефтезагрязнений почвы и растений, особенно на периодически затопляемых участках, наиболее эффективны сообщества литофильных и эпифильных видов. Устойчивость экосистем обеспечивается биоразнообразием на разных трофических уровнях, это распространяется и на консорции. В почвах и грунтах важную роль играет микробиота, успешная реабилитация экосистем после нефтезагрязнений зависит от устойчивости сообществ микробиоты, в том числе их фототрофной составляющей.

Целью данной работы была оценка устойчивости структуры консорций с доминированием зеленых водорослей и цианобактерий в присутствии нефтезагрязнений от наличия в их составе микромицетов.

Для анализа были использованы два типа консорций, выделенных из входной зоны пещеры Новофонская имени Г.Ш. Смыр — с доминированием зеленых водорослей и с доминированием цианобактерий. Водоросли и цианобактерии культивировали в среде Бристоля, в одном варианте проводили аксенизацию с применением вориконазола. Микромицеты выделяли на среде Чапека-Докса с целью определения видового состава. Температурный оптимум сообществ находится в интервале от 24 до 9 °С, а пределы развития 25–35 °С и от 1 до 9 °С.

Для тестов была использована малосернистая легкая нефть с плотностью 35.1°API и содержанием серы 0.57%. Период культивирования консорций в присутствии нефти был 60 дней, концентрация составляла 40 мл/л. Оценивали обилие видов по 5-бальной шкале.

Видовой состав и структура консорциев

Вид	С доминированием зеленых водорослей, балл обилия			С доминированием цианобактерий, балл обилия		
	Исходная	В присутствии нефти		Исходная	В присутствии нефти	
			Аксенизированная			Аксенизированная
<i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck [Beijerinck]	5	4	5	2	2	3
<i>Coccomyxa confluens</i> (Kützing) Fott	3	2	1	1	2	2
<i>Mychonastes homosphaera</i> (Skuja) Kalina & Puncochárová	4	3	1	2	3	4
<i>Myrmecia</i> sp.	2	1	-	1	1	-
<i>Neochloris</i> sp.	3	-	-	1	-	-
<i>Stichococcus bacillaris</i> Nägeli	5	2	-	2	2	-
<i>Chroococcus minimus</i> (Keissler) Lemmermann	1	1	-	4	1	1
<i>Cyanothece aeruginosa</i> (Nägeli) Komárek	1	3	-	4	2	1
<i>Leptolyngbya tenuis</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek	1	1	4	5	5	5
<i>Microcystis</i> sp.	1	3	4	3	4	4
<i>Nostoc</i> sp.	1	1	1	3	3	2
<i>Synechocystis</i> sp.	1	2	1	3	2	1
<i>Synechocystis pevalekii</i> Ercegovic	1	-	-	2	1	-

Из консорциев было выделено три вида микромицетов, отнесенных к роду *Penicillium*.

В структуре консорциев доминировали *Stichococcus bacillaris* и *Chlorella vulgaris*, а цианобактериальной консорции нитевидная *Leptolyngbya tenuis* и кокковые формы *Chroococcus minimus* и *Cyanothece aeruginosa* (таблица).

При культивировании с нефтью изменялась структура и состав консорциев, некоторые виды исчезали. Структура консорциев более соответствовала исходной в случае с неочищенной консорцией, после удаления микромицетов обнаружено полное исчезновение ряда видов (табл. 1). Можно предположить, что консорционные

связи определяют устойчивость сообщества и сохранность биоразнообразия в условиях нефтезагрязнений.

Интересно отметить, что в случае удаления микромицетов на доминирующие позиции вышли одни и те же виды, то есть проявилась устойчивость водорослей *Chlorella vulgaris*, *Mychonastes homosphaera*, *Leptolyngbya tenuis* и *Microcystis* sp. Эти виды часто доминируют в литофильных сообществах и относятся к космополитам.

Таким образом, доказано, что присутствие в составе консорциев микромицетов обеспечивает сохранение видового состава как в случае с доминированием зеленых водорослей, так и при доминировании цианобактерий.

ДРОЖЖЕВЫЕ СООБЩЕСТВА ПОЧВ МОСКВЫ

Тепеева А.Н.¹, Глушакова А.М.², Качалкин А.В.^{1,2}

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрабина РАН, Пущино

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения

Проведено комплексное исследование численности и разнообразия дрожжевых грибов в городских почвах (верхний гумусовый горизонт) Москвы: под газонной растительностью, рядом с локальными зонами размещения бытовых отходов, в зонах теплотрасс, в придорожных зонах городских автомагистралей, а также в ненарушенных почвах на территории природных парков (Лосиный остров и Измайлово). Всего проанализировано 1084 почвенных образцов. Таксономический состав дрожжевых грибов изучали стандартным методом посева на глюкозо-пептонно-дрож-

жевую среду с добавлением левомицетина. Видовую идентификацию дрожжевых грибов проводили на основе анализа нуклеотидных последовательностей D1/D2 доменов региона 26S (LSU) региона рДНК. Всего в ходе работы обнаружено 86 видов дрожжей (34 аскомицетового аффинитета, 52 — базидиомицетового). Установлено, что дрожжи являются обязательным компонентом микробного населения городских почв, их численность составляет в среднем около 6×10^3 КОЕ/г. Показано, что в городских почвах под газонной растительностью, как и в ненарушенных почвах

под лесом, доминируют базидиомицеты, тогда как в городских почвах рядом с локальными зонами размещения бытовых отходов и в почвах под лугом увеличивается доля аскомицетов. Тепловое воздействие вызывает подъем численности и разнообразия дрожжей в почве в осенне-зимний период, увеличение показателей выравненности сообществ, а также снижение доли краснопигментированных видов. Наибольшее видовое разнообразие дрожжей характерно для городских почв, примыкающих к придомовым зонам складирования бытовых отходов. В данных

зонах возрастает частота встречаемости клинически значимых видов дрожжей (*Candida parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Diutina catenulata* и *Pichia kudriavzevii*) до 35%, а доля в сообществе достигает 17%. Установлено, что структура почвенных дрожжевых комплексов значительно изменяется в зонах воздействия автотранспортного загрязнения. При удалении от автомагистрали изменяется спектр дрожжей-доминантов, возрастает относительное обилие вида *Solicoccozyma terreus* — постоянного компонента почвенных дрожжевых комплексов природных биотопов.

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОЧВ НА СТАБИЛЬНОСТЬ МИКОИНДИКАЦИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ

Терехова В.А.^{1,2}, Прудникова Е.В.¹, Федосеева Е.В.³, Якименко О.С.¹, Иванова А.Е.^{1,2}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Биотическая концепция экологического контроля стала базовой в оценке состояния природных экосистем. Известно, что биологические методы оценки качества являются специфическими для различного типа экосистем. При оценке почвенных ценозов важную роль играют методы, позволяющие характеризовать состояние микробного компонента почв, включая микологические диагностические признаки [1–3]. Согласно исследованиям, проведенным недавно в Европе, они включены в рейтинг лучших индикаторов почв агроценозов. Первые строки этого рейтинга заняли показатели структуры почвенных сообществ (трех групп микроорганизмов и мезофауны) и функционирования (анализ нескольких ферментов, почвенное дыхание) [*Ecological network analysis reveals the inter-connection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe, 2016*]. Иными словами, актуальность стратегии оценки качества почв на основе микодиагностики очевидна.

Формирование фундаментальных основ методологии почвенного мониторинга должно происходить с учетом приоритета таких характеристик, которые обеспечивают выполнение почвами базовых экологических функций — поддержание жизни и разнообразия живых систем.

Несостоятельность ранжирования экологического качества природных сред на основе концентрационных показателей химических веществ очевидна ввиду различной чувствительности живых систем к загрязнению. Невозможно охарактеризовать состояние биоты при одних и тех же нагрузках в разных экологических условиях на основе анализа данных химических анализов. Тем не менее, в системе экологического нормирования определениям допустимого содержания поллютантов (ПДК, ОДК, ОДУ и др.) придается большое значение ввиду удобства сравнений и определенного рода универсальной.

Мы провели экспериментальное сравнение изменений структурных и функциональных характеристик микобиоты под действием одной и той же нагрузки в строго спланированных модельных экспериментах с почвами одного типа почв, исходно различающихся по содержанию органического вещества.

Цель работы — исследовать стабильность микоиндикационных показателей в дерново-подзолистой почве с двух полей при одинаковой дозе полиметаллического загрязнения.

Материалы и методы. Исследование проводили на смешанных образцах почв, собранных на территории двух удаленных друг от друга полей (УОПЭЦ «Чашниково», Солнечногорский район, Московская область). Почва первого поля S1–(56°02'01.9"N/37°10'04.9"E) характеризовалась высоким содержанием органического углерода ($C_{\text{орг}}$ 3.86%), второго S2–(56°01'41.7"N/37°11'04.3"E) — низким (1.30%). Перед постановкой эксперимента почвы классифицировались как «агродерново-подзолистая глееватая глубокопахотная глубокооглеенная тяжелосуглинистая, подстилаемая мореной».

Просеянные воздушно-сухие почвенные образцы с каждого поля делили на две части. В одну часть вносили соли металлов (ТМ) — $ZnSO_4$, $PbCl_2$, $CuSO_4$ в количестве по 5 ОДК катионов. Остальная масса почвы (незагрязненная металлами) служила «контролем» (К). После недельной экспозиции с солями металлов массу одной и второй половины делили на 4 части (варианта опыта), в каждый вариант вносили ремедианты по отдельности биочар (производства ООО «Метаком») и лигногумат (производства ООО «РЭТ»), а также их смесь. Лигногумат вносили в почву в соотношении 25 мл на 1 кг почвы, биочар — 47,6 г на 1 кг почвы и экспонировали в сосудах еще неделю.

Рисунок — Число колониеобразующих единиц меланизированных форм микромицетов на среде Чапека в образцах почвы с двух полей (1 и 2), различающихся по содержанию органического вещества, при полиметаллическом загрязнении (ТМ) и добавках биочара (Б) и лигногумата (Л) (по оси ординат — КОЕ/г почвы)

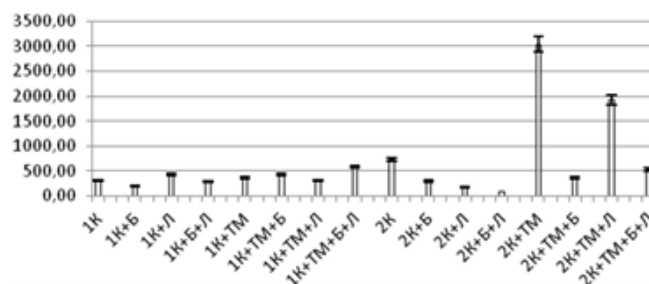


Таблица. Кратность изменения КОЕ меланизированных форм микромицетов в вариантах с полиметаллическим загрязнением ТМ (PbCuZn) и с добавками ремедиантов (Б -биочар и Л — лигногумат) относительно контрольных образцов (К -без добавок) почвы богатой органическим углеродом (поле 1) и бедной(поле 2) двух полей

Образцы почв	Варианты опыта							
	К	Б	Л	Б+Л	ТМ	ТМ+Б	ТМ+Л	ТМ+Б+Л
Поле 1 (S1)	1	0,63	2,17	0,65	1,29	1,18	0,73	1,84
Поле 2 (S2)	1	0,41	0,61	0,45	36,40	0,12	5,23	0,28

В почве всех вариантов эксперимента определяли содержание $C_{орг}$, общего азота и других химических элементов.

Структурные особенности мико- и микробиоты оценивали методами традиционного посева на питательные среды, характеризуя количественные и качественные морфометрические изменения выросших колоний по вариантам.

Функциональные особенности характеризовали по изменению запасов микробной биомассы, метаболическому коэффициенту, ферментативной активности, поглощению органических субстратов (результаты обрабатываются).

Результаты и обсуждение.

Для иллюстрации влияния гумусного статуса почв на проявление реакции микромицетов в данном сообщении приведем данные о динамике меланинсодержащих форм в сообществах культивируемых грибов в дерново-подзолистых почвах двух полей, различающихся по содержанию органического углерода.

Учет колониеобразующие единицы (КОЕ) проводили методом посева почвенной суспензии в воде в двух разведениях (1:100 и 1:1000) на подкисленную (для подавления роста бактерий) среду Чапека на 7 сутки экспозиции. Из каждого варианта опыта высевали грибы на 6 чашек Петри.

Меланинсодержащие грибы относят к числу резистентных к экстремальным экологическим факторам воздействия. Доля меланинсодержащих форм считается хорошим индикатором радиационного и химического загрязнения природных сред [4,5].

В ходе нашего лабораторного эксперимента было проведено сравнение количества темноокрашенных колоний почвенных грибов с двух полей в вариантах с высоким уровнем полиметаллического загрязнения, а также обработанных ремедирующими углеродсодер-

жащими агентами — биочаром (Б), лигногуматом (Л) по отдельности и в смеси (Б+Л).

Из данных, приведенных на рисунке видно, что бедная органическим углеродом почва (поле 2), очевидно, была в более стрессовом состоянии и доля меланизированных грибов там несколько выше, чем в почве с поля 1. Как показывают данные посева, добавки солей цинка, свинца и меди (ТМ на уровне 5 ОДК каждый) способствовала существенному возрастанию количества меланинсодержащих колоний существенно в почве с поля 2, исходно более чем в три раза беднее органическим углеродом по сравнению с почвой с поля 1.

Кратность этого превышения над контролем (вариант контрольной почвы без добавок) оказалась равной 36,4 раз (таблица). Такого не наблюдалось в высокогумусированной почве поля 1, где кратность превышения соответствовала 1,29. Добавки ремедирующих агентов (биочара и лигногумата) частично снимают негативное воздействие катионов металлов, и в этом случае не наблюдается большого увеличения резистентных к химическому загрязнению грибов.

Ранее мы предположили, что увеличение доли меланизированных форм грибов при отдельных видах химического загрязнения можно рассматривать как компенсаторный механизм, позволяющий грибам, адаптированным к стрессовым условиям, продуцировать пигментированную (меланизированную) биомассу и вносить вклад в гумификацию почв [6]. Это соображение основывается на меланоидной теории образования гумуса, которая наряду с другими обсуждается в литературе. А хорошо известно, что устойчивость богатых гумусом почв выше, чем почв, менее обогащенных органическим веществом.

Полученные данные подтверждают эту гипотезу, поскольку в ответ на резкое стрессовое воздействие грибные меланины, возрастание которых мы наблю-

даем, может способствовать повышению образования сложных молекул гуминовых веществ, что обеспечит устойчивость почвенных систем к неблагоприятным воздействиям.

Обсуждая же надежность (или стабильность) микроиндикационных показателей (понимая под этим воспроизведение уровня ответных реакций в разных почвенных условиях), то из полученных данных следует сделать вывод о нестабильности такого параметра как доля меланизированных грибов. Как показано в проведенном эксперименте, в зависимости от обогащенности почв органическим углеродом влияние полиметаллического загрязнения (5 ОДК катионов металлов) может в разной степени проявляться даже в почвах одного типа, в данном случае дерново-подзолистой.

Благодарности. Работа выполняется по гранту РФФИ №18-04-01218 и гранту для поддержки ведущих научных школ МГУ имени М.В. Ломоносова «Депозитарий живых систем Московского университета» в рамках Программы развития МГУ. Авторы выражают признательность кбн Карпунину М.М. и Учанову П.В. за химические анализы почвенных образцов.

Список литературы

1. Gadd G.M. Fungal response towards heavy metals. In *Microbes in Extreme Environments* // Ed. Gadd G.M., Herbert R.A. London: Academic Press. 1985. P. 83–110.
2. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. Медицина для всех, 2005. 196 с.
3. Терехова В.А. *Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем* М.: Наука, 2007. 215 с.
4. Dighton J., Tugay T., Zhdanova N. Fungi and ionizing radiation from radionuclides// *FEMS Microbiol. Lett.* 2008 V. 281. P. 109–120.
5. Zhdanova N.N., Zakharchenko V.A. & Haselwandter K. Radionuclides and fungal communities. *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem* (Dighton J, White JF & Oudemans P, eds), CRC Press, Baton Rouge. 2005. P. 759–768.
6. Терехова В.А. Динамика структуры и физиологические особенности меланизированных микромицетов в условиях разного гумусного статуса сред и химического загрязнения // Экология и биология почв. Международная научная конференция, 17–19 ноября 2014 г., Ростов на Дону, Россия. ЮФУ Ростов на Дону, Россия, 2014. С. 587–590.

ПРИМЕНЕНИЕ СПОР ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *LECANICILLIUM MUSCARIUM* (ASCOMYCOTA: HYPOCREALES) ПРОТИВ САМШИТОВОЙ ОГНЕВКИ В ПЕРКАЛЬСКОМ ДЕНДРОЛОГИЧЕСКОМ ПАРКЕ И НАЛЬЧИКЕ

Варфоломеева Е.А.¹, Митина Г.В.², Чоглокова А.А.³

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

²«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Санкт-Петербург

³«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Санкт-Петербург

Самшитовая огневка *Cydalima perspectalis* (Lepidoptera: Pyraloidea) впервые обнаружена в России в 2012 году на посадочном материале самшита вечнозеленого (*Vixus sempervirens* L.), привезенном из европейских питомников для озеленения объектов в Имеретинской низменности города Сочи (Гниненко, 2014). Особую опасность огневка представляет для распространенного в горах Кавказа реликтового эндемика — самшита колхидского (*Vixus colchica* Rojark.). Вредоносность насекомого обусловлена высокой плодовитостью самок и прожорливостью гусениц, а также тем, что вредитель за вегетационный период развивается в нескольких поколениях. Во влажных субтропиках Черноморского побережья Кавказа вредитель дает 3–4 поколения, причем последнее поколение (август-сентябрь) является наиболее многочисленным и вредоносным.

В городе Пятигорске самшитовая огневка была обнаружена летом 2016 года, а на территории Перкальского дендрологического парка — на вечнозеленом самшите (*Vixus sempervirens* L.) на год позднее (Варфоломеева, 2019). В 2018 и 2019 годах вспышка огневки началась с начала мая. В 2018 году было повреждено 65% самшитов, проведен блок обработок с чередованием групп препаратов: фосфорорганика, никотиноиды и ювенильные гормоны. В 2019 году

в начале мая была проведена обработка фосфорорганикой. В виду того, что применение пестицидов негативно сказывается на экологии биоценоза, были начаты испытания бластоспор и конидий энтопатогенного гриба *L. muscarium* с титром рабочей суспензии 1×10^7 спор/мл.

Высокая эффективность конидий энтомопатогенных грибов против самшитовой огневки ранее была показана на самшите колхидском, причем вид *L. muscarium* был обнаружен как патоген огневки в условиях Сочинского заповедника (Борисов, 2016). В Пятигорске обработку против личинок младшего возраста второго поколения проводили 24 июня 2019 года на живой изгороди самшита в жаркую сухую погоду.

Начальная численность колебалась от 1 до 4 экземпляров на ветку. Для обработки использовали образец пасты, полученной в ВИЗР на основе бластоспор штамма Г–21 ВИЗР гриба *L. muscarium* (Лабораторный регламент, 2019). Смертность гусениц составила 22% на 3 день, 73,3% на 7 день, 90,8% на 10 день после применения. В качестве химического эталона использовался инсектицид Дифлудид (дифлупензурон), эффективность которого составила 43,9% , 92%, 95% на 3, 7 и 10 день после применения, соответственно.

Испытания в Нальчике проводили на республиканской эколого-биологической станции 10 августа. Самшит обрабатывали суспензией конидий гриба *L. muscarium* штамм Г-033 ВИЗР (Патент RU 2598251/10, 20.09.2016), выращенного на чашках Петри на среде Чапека с дрожжевым экстрактом, споры смывали 0,01% раствором глицерина. Численность самшитовой огневки (личинки старшего и младшего возраста второго поколения) колебалась от 5 до 12 экземпляров на ветку. Смертность гусениц составила 25% на 3 день, 54,7% на 7 день и 80% на 10 день. Растения самшита, обработанные суспензией гриба, не повреждались вредителем в течение трех недель, в отличие от необработанных растений.

Эффективность бластоспор в виде препаративной формы пасты и конидий гриба *L. muscarium* в обоих испытаниях была близкой, однако, во втором случае начальная численность вредителя была значительно выше, и конидии гриба поражали личинок старшего возраста. Проведенные испытания показали перспективность применения энтомопатогенного гриба *L. muscarium* против самшитовой огневки.

Работа выполнена в рамках госзадания по плановой теме «Коллекции живых растений Ботанического института им. В.Л. Комарова (история, современное состояние, перспективы использования)», номер АААА-А18-118032890141-4.

Список литературы

1. Гниненко Ю.И., Ширяева Н.В., Щуров В.И. Самшитовая огневка — новый инвазивный организм в лесах Российского Кавказа // Карантин растений. Наука и практика. 2014. N 3. С. 32.
2. Варфоломеева Е.А. Самшитовая огневка *Cydalima perspectalis* — опасный вредитель флоры Кавказа // Флора и заповедное дело на Кавказе: история и современное состояние изученности: Матер. Междунар. конф., Пятигорск. 22–25 мая 2019 г. С. 31–32.
3. Борисов Б.А., Карпун Н.Н., Журавлева Е.Н., Борисова И.П. Оценка возможности биологического контроля самшитовой огневки *Cydalima perspectalis* энтомопаразитическими грибами // Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике: Матер. Всеросс. конф. с междунар. участием, 18–22 апреля 2016 г. М.-Красноярск: ИЛ СО РАН, 2016. С. 41–43.
4. Лабораторный регламент на производство биопрепарата «Вертициллин П, ПС» Павлюшин В.А., Митина Г.В., Чоглокова А.А. Санкт-Петербург, 2019.
5. Штамм гриба *Lecanicillium muscarium*, обладающий инсектоакарицидной и антибиотической активностью для борьбы против сосущих вредителей, грибных и бактериальных болезней. Митина Г.В., Борисов Б.А., Первушин А.Л., Чоглокова А.А., Павлюшин В.А. Патент на изобретение RU 2598251 С1, 20.09.2016. Заявка № 2015135955/10 от 25.08.2015.

Глава 5. Экстремофилы. Грибы в Арктике, Антарктике и ближнем космосе

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.05

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА.

Балтина И.Ю., Крашенинникова Т.К., Синчурина Е.В.
ОАО Биохиммаш, Москва

Целью космического эксперимента (КЭ) «Каскад» является исследование процессов культивирования клеток микроорганизмов, животных и человека в научной аппаратуре (НА) «Биоэмульсия» в условиях микрогравитации для получения концентрированной биомассы с высоким содержанием клеток, обеспечивающих повышенный выход целевых БАВ.

В процессе постановки экспериментов на МКС проводились исследования влияния факторов полета на свойства клеток грибной культуры и продуктов их биосинтеза с целью достижения максимально возможного выхода биомассы и целевых продуктов биосинтеза — БАВ. Работа проводилась с грибной культурой *Mycelium radialis* var. *ledum* штамм НЖ-13 — продуцент препарата биостимулятора роста растений.

КЭ «Каскад» включает в себя культивирование в биореакторе закрытого типа НА «Биоэмульсия» грибной культуры *Mycelium radialis* var. *ledum* штамм НЖ-13 в жидкой питательной среде Гельцер. Процесс культивирования проводят при температуре $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 21 суток. По завершению процесса культивирования грибной культуры на борту МКС результаты эксперимента «Каскад» (биореактор НА «Биоэмульсия» с культуральной жидкостью) возвращаются на Землю в лабораторию «Космической биотехнологии» ОАО «Биохиммаш», где проводят лабораторные исследования космического биоматериала.

Исследование культуральной жидкости (КЖ) включает в себя рассев на твердую питательную среду в чашки Петри для изучения макроморфологических свойств грибной культуры, светлополюсную микроскопию для изучения морфологических свойств культуры, определение абсолютно сухих веществ, pH, аминного азота, редуцирующих веществ и ростостимулирующей активности препарата, полученного на основе летной культуры штамм НЖ-13.

Космонавтами в период МКС-35, МКС-36, МКС-37, МКС-38, МКС-40, МКС-41, МКС-44 и МКС-48 было осуществлено стерильное внесение посевного материала культура *Mycelium radialis* var. *ledum* в биореактор закрытого типа на борту РС МКС. В результате проведения космического эксперимента «Каскад» в период

МКС-36, МКС-38, МКС-40, МКС-41, МКС-43 и МКС-44 была получена КЖ грибной культуры *Mycelium radialis* var. *ledum* штамм НЖ-13, не отличающаяся от контрольного образца по изученным параметрам.

При лабораторном изучении биохимических показателей культуральной жидкости, полученной на МКС, отмечалось снижение всех величин в летном варианте по сравнению с величиной этих показателей в наземном варианте, полученным при культивировании штамма НЖ-13 по циклограмме КЭ, и контрольном варианте, выращенным в колбе. Этот эффект может быть связан с влиянием различных факторов космического полета на интенсивность метаболизма грибной культуры, вследствие чего происходит более интенсивное потребление компонентов субстрата питательной среды.

При этом в условиях орбитального полета при выращивании грибной культуры в биореакторе были получены КЖ со сбалансированным комплексом биологически активных веществ, которые проявляют, при определенном разведении рабочего раствора, максимальную ростостимулирующую активность как для корней, так и для стеблей. Наиболее сбалансированный комплекс биологически активных веществ был обнаружен при разведении рабочего раствора до 10 ppm. При этом, в космическом эксперименте впервые получена культура, ростостимулирующая активность для стеблей и корней которой в 10 раз превышала величину этого показателя полученного для наземной культуры и была выше ростостимулирующей активности контрольной культуры.

В КЖ, полученной в период МКС-38, оптимальное соотношение ростостимулирующей активности для корней и стеблей наблюдалось при разведении рабочего раствора до 1 ppm.

В ходе проведения космического эксперимента «Каскад» изучили свойства и характеристики выращиваемого грибного штамма при культивировании в условиях орбитального полета на жидкой питательной среде, а также провели оптимизацию режимных параметров внесения посевного материала и культивирования клеток штамма НЖ-13 в биореакторе закрытого типа.

Результаты, полученные в ходе реализации КЭ «Каскад» с НА «Биоэмульсия», положены в разработку новой НА «Каскад», представляющей собой биореактор закрытого типа, снабженного штуцерами для подачи питательной среды и посевного материала, тремя отверстиями для введения в полость биореактора датчиков контроля температуры, pH и содержания кислорода, системой визуального наблюдения и сменной мешалкой.

Данные результаты могут быть использованы при культивировании продуцентов других видов в интересах создания биологической системы обеспечения жиз-

недеятельности (БСОЖ). В МКС-60 начат второй этап КЭ с использованием НА «Каскад». В период МКС-62 планируется проведение второго сеанса второго этапа эксперимента.

Список литературы

1. Основные результаты исследования КЭ «Каскад» / Семелева О.А., Балтина И.Ю., Кузнецова И.В., Лаврикова В.В., Уткина Е.В. // Пилотируемые полеты в космос. Материалы XI Международной научно-практической конференции. — 2015 г. — С. 163–165

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ ПРИ ПРЕОДОЛЕНИИ ПЛОТНЫХ СЛОЕВ АТМОСФЕРЫ В МИКРОПОЛОСТЯХ БАЗАЛЬТОВЫХ МЕТЕОРИТОВ

Дьяков М.Ю.¹, Александрова А.В.¹, Апрышко В.П.¹, Ильин В.К.², Поддубко С.В.²

¹Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова;

²Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

Человечество всегда волновал вопрос о появлении жизни на Земле, а в современном мире — мире космических полетов, волнующим человечество вопросом является и возможность переноса при межпланетных полетах чужеродных организмов как на Землю, так и на другие планеты.

Находка структур, напоминающих минерализованные бактериальные клетки, в микрополостях марсианского базальтового метеорита из Антарктиды [1, 2] вызвала новую волну интереса к теории межпланетарной панспермии, предложенной в общих чертах Сванте Аррениусом [3].

Микроорганизмы способны длительно сохранять жизнеспособность в условиях близких к космическим. Наиболее сложный этап пути с Марса на Землю — это преодоление плотных слоев земной атмосферы. Для проверки реальности гипотезы панспермии в 2010 году был разработан внешний спутниковый базальтовый контейнер «Метеорит» [4]. В 2014 году в экспериментах на базе этого контейнера на спутнике Фотон-М4 было показано, что спорообразующие бактерии способны выживать в микрополостях базальтовых метеоритов при преодолении плотных слоев атмосферы Земли [5, 6].

В настоящий момент нами ведутся работы по подготовке экспериментов на базе контейнера «Метеорит» для проверки возможности выживания в таких условиях мицелиальных грибов. Если даже эукариотические организмы способны на такое, то, очевидно, что преодоление плотных слоев атмосферы Земли не является существенным препятствием для продвижения жизни.

В ходе экспедиционных работ, проведенных в регионах с разными климатическими условиями, были собраны образцы субстратов (почвы, подстилки, листового опада, соскребов с каменистых поверхностей) в местообитаниях с высокими суточными и годовыми температурными колебаниями или подверженными регулярным пирогенным воздействиям. Перед выделением микроорганизмов субстраты подвергали резкому

прогреву до разных температур. В результате создана коллекция из 28 штаммов мицелиальных грибов, выживших при температурах 120–170 °С в течение 10 минут.

Грибы, с экстремально термоустойчивыми пропагулами выявлены в образцах из разных регионов. Были они и в мерзлотных почвах Оймякона, где годовые колебания температур могут превышать 100 °С (от –70 до +35 °С). Но большее их количество обнаружено в южных регионах, особенно на открытых, прогреваемых солнцем местах.

Помимо свойств самих микроорганизмов, большое значение для их выживания имеет и субстрат, обладающий защитными свойствами. Для создания модельного термопротекторного субстрата, адекватного с точки зрения проверяемой теории, изготовлен имитатор марсианского грунта в пылевой фракции на основе рецептуры имитатора MGS-1 [7]. Он будет использован в качестве носителя пропагул грибов, кандидатов для следующего этапа эксперимента «Метеорит», при отборе наиболее устойчивых к непродолжительному воздействию экстремально высоких температур.

Работа была поддержана грантом МГУ им. М.В. Ломоносова для поддержки ведущих научных школ МГУ «Депозитарий живых систем Московского университета» в рамках Программы развития МГУ.

Список литературы

1. Cooney T.F., Scott E.R.D., Krot A.N., Sharma S.K., Yamaguchi A. (1999) Vibrational spectroscopic study of minerals in the Martian meteorite ALH84001. IAMI, 84: 1569–1576.
2. Steele A., Goddard D.T., Stapleton D. et al. (2000) Investigations into an unknown organism on the martian meteorite Allan Hills 84001. Meteorit. Planet. Sci., 35: 237–241.

3. Arrhenius S. (1908) *Worlds in the Making*. London: Harper.
4. Дьяков М.Ю. (2012) Базальтовые контейнеры «Метеорит». Мат-лы 1 Всероссийской научной школы-конференции по астробиологии «Астробиология: от Происхождения Жизни на Земле к Жизни во Вселенной» памяти Давида Гиличинского, Пушкино 6–19 сентября 2012 г., с. 88.
5. Ilyin V., Polikarpov N., Slobodkin A. et al. (2014) Survival of microbial cultures on minerals while passing through the dense layer of atmosphere. 40th COSPAR Sci. Ass. Held 2–10 August 2014, Moscow, Russia, Abstr. id. F3.1–5–14.
6. Slobodkin A., Gavrilov S., Ionov V., Iliyev V. (2015) Spore-Forming Thermophilic Bacterium within Artificial Meteorite Survives Entry into the Earth's Atmosphere on FOTON-M4 Satellite Landing Module. *PLoS ONE* July 7, 2015, pp. 1–13, DOI:10.1371.
7. Cannon K.M., Britt D.T., Smith T.M., Fritsche R.F., Batchelder D. (2019) Mars global simulant MGS-1: A Rocknest-based open standard for basaltic martian regolith simulants. *Icarus*, 317: 470–478.

ГРИБЫ-ЭКСТРЕМОФИЛЫ РОДА *EMERICELLOPSIS* (HYPOCREALES) В СОДОВЫХ СОЛОНЧАКАХ — ТАКСОНОМИЯ, ОСОБЕННОСТИ ЭКОФИЗИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Георгиева М.Л.^{1,2}, Бондаренко С.А.^{1,3}, Биланенко Е.Н.¹, Ефименко Т.А.², Куварина А.Е.², Гаврюшина И.А.², Рогожин Е.А.^{2,4}, Садыкова В.С.²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

² НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

³ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

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

Континентальные засоленные водоемы представляют собой экстремальные биотопы, для которых характерен сложный гидрологический режим, значительные годовые и сезонные колебания температуры и концентрации рассолов, часто высокие значения рН. Засоленные озера и окружающие их почвы активно используются в современной хозяйственной деятельности человека, поскольку являются источниками добычи природной соды и соли, служат местом расположения санаториев и лечебниц, местом заготовки яиц рачка артемии, используемых в аквариумистике и рыбном хозяйстве. Грибы, как известные биодеструкторы, несомненно вносят вклад в эту биогеосистему. Микологические исследования показали, что функционально значимые микромицеты в таких экстремальных условиях представлены небольшой группой, основу которой составляют всего несколько таксонов аскомицетов. Некоторые из них оказались новыми для науки видами — *Sodiomyces alkalinus*, *S. magadii*, *S. tronii*; *Emericellopsis alkalina*, *Chordomyces antarcticum*, *Alternaria kulundii*, *A. petuchovskii*, *A. shukurtuzii* [1, 2]. Для роста и развития в подобных экстремальных условиях микромицеты имеют специфические особенности адаптации, которые только начинают активно изучаться [3].

К настоящему времени продолжается анализ новых образцов почв с побережий озер различной минерализации, расширяется коллекция культур экстремофильных грибов, проводится характеристика их морфолого-культуральных и генетических признаков, анализ особенностей экофизиологии. Один из основных доминирующих видов в засоленных почвах, окружающих содовые озера различных географических регионов, является описанный в 2013 г. *Emericellopsis alkalina* Bilanenko & Georgieva [1]. Изоляты этого вида способны развиваться в широком диапазоне рН, показывая факультативно-алкалофильный тип адаптации, они

обладают способностью продуцировать антимикробные вещества. Предмет данного сообщения — характеристика новых изолятов мицелиальных грибов рода *Emericellopsis* из содовых солончаков Кулундинской степи (Алтайский край, Россия) и оценка их биотехнологического потенциала как продуцентов новых антибиотиков.

Было проведено комплексное изучение 16 изолятов грибов рода *Emericellopsis*, выделенных из образцов почв с побережий засоленных озер Алтайского края — Кулундинское, Малиновое, Петуховское, Танатар. Значения рН образцов составляли 8,5–10,5. Для изучения морфофизиологических признаков и с целью получения совершенной стадии изоляты грибов были посеяны на различные питательные среды: агар Чапека, суло-агар, картофельно-глюкозный агар, овсяный агар, кукурузный агар, щелочной агар. Изучение микроморфологии проведено при помощи светового и электронного сканирующего микроскопов. Определение таксономического положения подтверждено на основании анализа генов ITS rDNA, LSU, *TEF-1α*, *β-tub*, *RPB2* и филогенетических построений. Особенности адаптации к экстремальным условиям оценивали на твердых средах в диапазоне значений рН 4–10, концентрации NaCl 0–3 моль. Анализ способности к росту и развитию в бескислородных условиях выполнен в специальной камере, анаэробииоз в которой создавали с помощью генераторов анаэробной атмосферы — пакетов-газогенераторов “GENbox anaer” (“BioMerieux Co”, Франция). Поиск продуцентов пептидного антимикотика — эмерициллипсина А и других активных антимикробных веществ проведен по разработанной ранее схеме и включал: скрининг методом блоков на тест-культурах *Aspergillus niger* INA 00760, *Candida albicans* ATCC 2091, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 из коллекции «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», анализ экстрактов, оценку количественного содержания компонента на ВЖХ.

Исследование подтвердило широкие адаптационные возможности грибов рода *Emericellopsis* из содовых солончаков. Только один изолят *E. alkalina* был способен формировать телеоморфу, остальные — исключительно конидиальное спороношение (анаморфу). Поэтому для уточнения таксономического статуса был использован молекулярно-генетический анализ. Большинство изолятов отнесено к описанному нами ранее доминанту засоленных биотопов — *Emericellopsis alkalina*, также в содовых солончаках выявлены *E. maritima* и *E. terricola*. Изоляты этих видов существенно отличаются между собой по типу адаптации к рН. Для изолятов *E. alkalina* характерен факультативно-алкалофильный тип адаптации — они хорошо растут в широком диапазоне значений рН, с небольшим оптимумом в щелочной области. Изоляты *E. terricola* показали алкалотолерантный тип адаптации, указывающий на способность гриба расти при высоких значениях рН среды, однако оптимум его развития лежит в нейтральной области значений рН. По отношению к концентрации соли в среде изоляты *E. alkalina* и *E. maritima* — галотолеранты. В условиях анаэробно-биоза роста и развития у всех изолятов не отмечено.

В настоящее время род *Emericellopsis* (Hypocreales, Hypocreomycetidae, Sordariomycetes, Pezizomycotina, Ascomycota) включает 19 видов, занесенных в базы данных Index Fungorum и MycoBank. Виды этого рода обнаружены в различных условиях, однако многие из них приурочены к биотопам, связанным с обводненными и/или засоленными условиями [1, 4]. Некоторые исследователи указывают на наличие хорошо поддерживаемых клад внутри рода, одна из которых представлена видами наземного происхождения, другая включает морские виды. Интересно, что *E. alkalina* группируется с морскими видами, показывая близость изолятов из содовых солончаков к представителям морской клады этого рода [1].

Важное прикладное значение имеет способность видов рода *Emericellopsis* продуцировать различные полипептидные антибиотики группы пептаиолов, обладающие мембранно-активным деструктивным действием по отношению к широкому спектру патогенных микроорганизмов. Помимо широко изученных пептаиолов группы зервамицинов, рекомендованных недавно к доклиническим исследованиям, выделены и описаны эмерицеллопсины А и Б, бергофунгины А, В, С и D, гептаибин и ряд других. Скрининг изолятов *E. alkalina* на антимикробную активность позволил выявить штамм-продуцент (ВКПМ F-1428) нового метаболита. Активный компонент был выделен, очищен и описан как новый антибиотик — эмерициллипсин А [5, 6]. Получены данные о противогрибковой активности эмерициллипсина А в отношении клинических штаммов 67 патогенных видов грибов и активности в отношении биопленкообразующих клинических штаммов бактерий [7]. Изучение антибиотической активности 16 новых изолятов показало ее наличие у всех изолятов в отношении *Aspergillus niger*, у части изолятов по отношению к *Candida albicans* и/или *Bacillus subtilis*. Содержание эмерициллипсина А отмечено у всех изолятов, но в незначительном количестве. В экстрактах некото-

рых изолятов обнаружено также наличие других пептаиолоподобных компонентов.

Таким образом, проведенная комплексная характеристика изолятов рода *Emericellopsis* из содовых солончаков Кулундинской степи подтвердила широкую представленность *E. alkalina* в засоленных почвах на побережьях содовых озер. Показана экологическая пластичность этого вида, необходимая для функционирования в экстремальных условиях содового засоления, а также направления возможного поиска новых биологически активных соединений.

Выделение и морфолого-культуральная характеристика изолятов выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00992 А, раздел по оценке антимикробной активности выполнен при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-74-10073).

Список литературы

1. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Debets A.J.M., Bilanenko E.N. Are alkalitolerant fungi of the *Emericellopsis* lineage (Bionectriaceae) of marine origin? // IMA Fungus. 2013. Vol. 4. N. 2. P. 211–226.
2. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Bondarenko S.A., Debets A.J.M., Bilanenko E.N. On the diversity of fungi from soda soils // Fungal Diversity. 2016. Vol. 76. N. 1. P. 27–74.
3. Bondarenko S.A., Yanutsevich E.A., Sinitsyna N.A., Georgieva M.L., Bilanenko E.N., Tereshina V.M. Dynamics of the cytosol soluble carbohydrates and membrane lipids in response to ambient pH in alkaliphilic and alkalitolerant fungi // Microbiology. 2018. Vol. 87. I. 1. P. 21–32.
4. Gonçalves M.F.M., Vicente T.F.L., Esteves A.C. & Alves A. Novel halotolerant species of *Emericellopsis* and *Parasarocladium* associated with macroalgae in an estuarine environment // Mycologia. 2019. DOI: 10.1080/00275514.2019.1677448
5. Rogozhin E.A., Sadykova V.S., Baranova A.A., Vasilchenko A.S., Lushpa V.A., Mineev K.S., Georgieva M.L., Kul'ko A.B., Krashenninikov M.E., Lyundup A.V., Vasilchenko A.V., Andreev Ya A. A novel lipopeptidol *Emericellipsin* A with antimicrobial and antitumor activity produced by the extremophilic fungus *Emericellopsis alkalina* // Molecules. 2018. Vol. 23. N. 11. 2785.
6. Садыкова В.С., Рогожин Е.А., Баранова А.А., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н., Васильченко А.С. Штамм *Emericellopsis alkalina* Bilanenko & Georgieva — продуцент антибиотиков — пептаиолов с антигрибной и антибактериальной активностью. Патент РФ № 2704421 от 06.05.2019.
7. Садыкова В.С., Гаврюшина И.А., Куварина А.Е., Маркелова Н.Н., Седых Н.Г., Георгиева М.Л., Барашкова А.С., Рогожин Е.А. Антимикробная активность липопетида — Эмерициллипсина А, выделенного из *Emericellopsis alkalina*, в отношении биопленкообразующих бактерий // Прикладная биохимия и микробиология. 2020. Т. 56, № 3. С. 1–7.

ДИНАМИКА КОМПЛЕКСОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ПРОЦЕССЕ ЗАРАСТАНИЯ
УГОЛЬНЫХ ОТВАЛОВ В УСЛОВИЯХ АРКТИКИ

Ильюшин В.А., Кирицидели И.Ю

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

Добыча каменного угля сопровождается формированию техногенных ландшафтов. Так, породные отвалы шахт распространяются на значительные территории в районах угледобычи. Архипелаг Шпицберген является самым северным местом, где осуществляется промышленная добыча угля.

Первыми организмами, поселяющимися в верхних слоях породных отвалов, являются литобионтные микроорганизмы, в том числе и грибы. Они играют центральную роль в формировании почв, участвуют в биогенном выветривании, разложении органического вещества и формировании гумуса. Однако в условиях Арктики сукцессия в нарушенных ландшафтах протекает особенно медленно, так как северные экосистемы более уязвимы к техногенному воздействию, а биологические процессы в высоких широтах замедлены (Krause-Jensen and Duarte, 2014).

Целью исследования было изучение динамики комплексов микроскопических грибов породных отвалов угольных шахт в процессе их зарастания в условиях Арктики.

Для изучения динамики комплексов микромицетов на территории архипелага Шпицберген вблизи пос. Баренцбург (78°03'51" с. ш., 14°11'09" в. д.) были отобраны пробы породы отвалов шахты по добыче каменного угля разных возрастов (формируемые отвалы, 10-, 30- и 50-летние).

Чистые культуры грибов выделяли на агаризованной среде Чапека (CZA), таксономическую принадлежность выделенных микроскопических грибов определяли на основании культурально-морфологических признаков (Domsch et al., 2008) и молекулярной идентификации. Последовательность региона ITS использовали в качестве филогенетического маркера (White et al., 1990).

Всего из исследованных образцов было выделено 2928 колоний. В результате проведенных исследований выявлен 61 вид микроскопических грибов из 35 родов. В формируемом породном отвале наблюдали абсолютное доминирование *Pseudogymnoascus rapoportii*. Доля изолятов этого вида составила 60%. Этот вид является олиготрофом, который способен быстро заселять субстраты, непригодные для других видов. С возрастом

отвалов, удельное обилие падает до 21%. С возрастом отвалов, наоборот увеличивается доля грибов рода *Penicillium*. Если в формируемом породном отвале они практически отсутствуют, то в 50-летнем отвале доля достигает 40%.

Численность микромицетов в породных отвалах угольной шахты была относительно невысокой. Данный показатель увеличивался с возрастом породных отвалов. Так, в формируемом, или эксплуатируемом, отвале, численность микроскопических грибов была в среднем в 7 раз ниже, чем в 50-летнем отвале и составляла 323 КОЕ/г. Однако даже в 50-летнем отвале была в 2,5 раза ниже, чем в контроле.

Для почв севера характерно преобладание пропагул в верхнем горизонте. С глубиной, от подстилки к минеральным горизонтам, численность микромицетов сильно снижается. Однако в отвалах разных возрастов на глубине численность становилась выше. Вероятно, это связано с процессом формирования отвала. При его образовании, порода, которая была на поверхности и содержала жизнеспособные пропагулы, оказалась погружена под новой шахтной породой. А на глубине оказались условия, благоприятные для развития, например, отсутствие перепада температур.

Таким образом, с увеличением времени, прошедшего после остановки эксплуатации породного отвала, увеличивается численность микромицетов, происходит смена доминантных видов и постепенное формирования микобиоты, характерной для естественных почв данного региона.

Список литературы

1. Krause-Jensen D., Duarte C.M. Expansion of vegetated coastal ecosystems in the future Arctic. *Frontiers in Marine Science*. — 2014. doi: 10.3389/fmars.2014.00077
2. Domsch K. H., Gams W.; Anderson T.-H. *Compendium of soil fungi*. // IHW-Verlag. Eching. 2007. 672 p.
3. White T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // *Academic Press*, London, UK. — 1990. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. — P. 315–322.

ОРНИТОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА МИКОБИОТУ ПОЧВ В РАЙОНЕ ПОЛЯРНЫХ СТАНЦИЙ В АНТАРКТИКЕ

Кирицидели И.Ю.¹, Власов Д.Ю.^{1,2}, Панин А.Л.³, Краева Л.А.³

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург;

²Санкт-Петербургский государственный университет

³Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Исследования микобиоты орнитогенных местообитаний позволяют оценить возможность инвазии микромицетов в антарктические экосистемы благодаря переносу птицами (Singh et al., 2015), а также составить представление о влиянии орнитогенного загрязнения на состав и структуру микробных сообществ в первичных почвах и биопленках в местах колоний птиц (Miljkovic et al., 2011; Imran, Ali, 2014). В некоторых случаях микроскопические грибы способны выступать в качестве патогенных микроорганизмов (Dunowska, Kisicka 2005a,b). Арктические птицы могут выступать как «хозяева» и/или переносчик грибов (Tsiodras et al. 2008; Dunowska et al. 2013). Исследование микроскопических грибов развивающихся на поверхности перьевого оперения птиц в Арктике и Антарктике (Wojczulanis-Jakubas et al., 2011; Singh et al., 2014) очень ограничено.

Нами проведен анализ микобиоты орнитогенных местообитаний в нескольких районах Антарктиды. Основное внимание было уделено территориям, прилегающим к станции Беллинзгаузен, где можно встретить множество мест со следами присутствия птиц (в основном пингвинов и антарктических поморников). Пробами для микологического анализа служили образцы грунта с биопленками и первичные почвы, содержащие орнитогенные включения (гуано, перья, кости, погатки). Выделение микроорганизмов в культуру проводилось стандартными методами посева на агаризированные питательные среды (при температуре +5, +14 и +37 °C). Часть полученных изолятов была идентифицирована с использованием молекулярных методов (по регионам ITS1 и ITS2).

Влияние птиц на формирование напочвенного покрова и первичных почв хорошо отмечено, так в орнитогенных местообитаниях часто доминируют цианобактерии, а также зеленая водоросль *Prasiola crispa*. В результате проведенных исследований выявлены значительные отличия видового состава микроскопических грибов орнитогенных и контрольных почв (не подвергающихся загрязнению). При этом численность микроскопических грибов в орнитогенных почвах существенно увеличивалась по сравнению с контрольными участками. Это увеличение могло составлять более двух порядков. Большая часть видов микромицетов, выделенных из орнитогенных местообитаний, относилась к психротрофам. Они были способны развиваться в достаточно широком диапазоне температур, но сохраняли способность к росту и при +5 °C. Способность к росту при температуре 37 °C проявили только 6 видов.

Установлено сходство типичных видов микромицетов в орнитогенных местообитаниях, связанных с присутствием различных видов птиц. Наибольшая встречаемость отмечена для видов *Pseudogymnoascus pannorum*, *Cosmospora berkeleyana* (*Acremonium berkeleyanum*), которые можно отнести к доминантным видам.

В орнитогенных местообитаниях выделено 4 вида рода *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Aspergillus* sp.). Эти виды не характерны для антарктических экосистем. Известно, что виды данного рода могут быть связаны именно с птицами, а их попадание в почвы Антарктиды, скорее всего, обусловлено орнитогенным переносом. Интересно отметить, что именно выявленные виды рода *Aspergillus* оказались способны к росту при 37 °C. К термотолерантным видам по результатам экспериментов нами также отнесены *Penicillium chrysogenum* и *Rhodotorula* sp. Выявлено 6 видов из отдела *Micoromycota*, что также нетипично для первичных почв в Антарктиде. Из числа базидиомицетов отмечены только дрожжевые грибы из 2 родов. В целом же, по видовому составу преобладают аскомицеты (23 вида). Они же были представлены наибольшим количеством выделенных изолятов. Кроме вышеперечисленных грибов в орнитогенных местообитаниях отмечали виды родов *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Paecilomyces*, *Phoma*. В пробах орнитогенных почв достаточно обычными были дрожжевые формы микромицетов, имеющие светлую и темную пигментацию.

Полученные данные указывают на специфику микобиоты орнитогенных местообитаний и ее существенные отличия от микоботы незагрязненных почв. Главной причиной тому может служить повышенное содержание в них органического вещества. Это подтверждается данными метаболомного анализа отдельных образцов орнитогенных почв, отобранных в субантарктике. В пробе почвы с характерным орнитогенным загрязнением, отобранной на острове Нельсон (Южные Шетландские острова), содержалось значительно больше сахаров, чем в экстрактах других проб, отобранных на контрольных участках (определяла Сазанова К.В.).

Полученные результаты исследования микобиоты орнитогенных местообитаний в районе станции Беллинзгаузен во многом сходны с данными по аналогичным местообитаниям в районе станции Прогресс. Очевидно, условия формирования почв в различных регионах прибрежной части Антарктиды, связанные с орнитогенным влиянием, определяют сходство микобиот (в особенности, доминирующих видов).

Работа частично выполнялась в рамках гос. задания согласно тематическому плану БИН РАН по теме № АААА-А18-118031290108-6, программе фундаментальных исследований Президиума РАН и проекта РФФИ 18-04-00900 А.

Список литературы

1. Singh S.M., Tsuji M., Gawas-Sakhalkar P., Loonen M., Hoshino T. Bird feather fungi from Svalbard Arctic// Polar Biol 2015. DOI 10.1007/s00300-015-1804-y

2. Miljkovic B., Pavlovski Z., Jovičić D., Radanović O., Kureljušić B. Fungi on feathers on common clinically healthy birds in Belgrade //Biotechnology in Animal Husbandry. 2011. 27(1):45–54. DOI: 10.2298/BAH1101045M
3. Imran Z.K., Ali R.I. The risk of several fungi associated with bird waste//International Journal of Medical Science And Clinical Inventions. 2014. 1(10): 558–562. <http://valleyinternational.net/index.php/our-jou/ijmsci>
4. Dynowska M., Kisicka I. Fungi isolated from selected birds potentially pathogenic to humans//. Acta Mycol. 2005a. 40:141–147.
5. Dynowska M., Kisicka I. Participation of birds in the circulation of pathogenic fungi descend from water environments: a case study of two species of Charadriiformes birds.//Ecohydrol Hydrobiol/ 2005b. 5:173–178.
6. Tsiodras S., Kelesidis T., Kelesidis I., Bauchinger V., Falagas M.E. Human infections associated with wild birds. //J Infect. 2008. 56:83–98/
7. Dynowska M., Wojczulanis-Jakubas K., Pacyns'ka J.A., Jakubas D., Ejdy E. Potentially pathogenic yeast isolated from the throat and cloaca of an Arctic colonial seabird: the little auk (*Alle alle*)// Polar Biol. 2013. 36:343–348.
8. Wojczulanis-Jakubas K., Dynowska M., Jakubas D. Fungi prevalence in breeding pairs of monogamous seabird: little auk, *Alle alle*.// Ethol Ecol Evol. 2011. 23:240–247
9. Singh S.M., Singh P.N., Singh S.K., Sharma P.K. Pigment, fatty acid and extracellular enzyme analysis of a fungal strain *Thelebolus microsporus* from Larsemann Hills, Antarctica.// Polar Rec. 2014. 50:31–36.

ГРИБНЫЕ СООБЩЕСТВА ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ (НА ПРИМЕРЕ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ) КАК АСТРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ВНЕЗЕМНЫХ УСЛОВИЙ

Крючкова М.О.^{1,2}, Воробьева Е.А.^{1,4}, Иванова А.Е.^{1,3}, Чепцов В.С.^{1,4}, Павлов А.К.⁵

¹МГУ им. М.В. Ломоносова;

²ИБФМ им. Г.К. Скрябина ВКМ;

³ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова, Москва;

⁴ИКИ РАН, Москва;

⁵ФТИ РАН им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург.

Грибные сообщества экстремальных местообитаний подвергаются серьезному воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды. В пустынных почвах в условиях длительного иссушения, повышенной по сравнению с умеренными широтами дозы солнечной радиации, засоления, низкого содержания органического вещества грибы для выживания выработали адаптационные механизмы к множественному стрессу. Именно поэтому такие эукариотические организмы представляет особый интерес у астробиологов и выбраны в качестве модельных объектов в данном исследовании. Возможно, грибы пустынных местообитаний могут выдерживать и более суровые условия, такие как низкое давление, температура, высокие дозы облучения, в том числе и ионизирующего, которые широко представлены в космическом пространстве и на поверхности планет, имеющих весьма разреженную атмосферу, например на Марсе.

Целью данного исследования было изучение таких показателей микобиоты пустынных почв, как биоразнообразие, численность, биомасса, при воздействии, моделирующем условия Марса на геологической шкале времени, а именно облучение высокими дозами ионизирующего излучения (γ -лучи и ускоренные электроны) в режиме низких температур и давления.

Объектом исследования были почвенные образцы верхних гумусовых горизонтов пустынных почв: серозема (пустыня Негев, Израиль, Aridic Calcisols) и серо-коричневой (горная пустыня Марокко, Xerosols).

Облучение осуществляли на базе Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе (Санкт-Петербург)

в специальной климатической камере, позволяющей сохранять заданное давление и температуру в течение всего эксперимента [1]. Облучение γ -лучами проводили в режиме низких температур (-50°C) и давления (1 торр). Образец серозема получил суммарную дозу 100 кГр, а образец серо-коричневой почвы — 1 МГр. Перед облучением образцы активировали увлажнением и инкубировали 10 суток при 28°C , затем высушивали до воздушно-сухого состояния. После облучения образцы хранили при -18°C .

Облучение ускоренными электронами проводили в режиме низких температур (-130°C) и давления ($8-9 \cdot 10^{-3}$ торр) на образцах серозема. Почвенные образцы получили следующие дозы: 0,05; 1; 2, 3, 4 и 5 МГр. Один образец был подвержен воздействию только температуры и давления, без облучения, другой облучали при комнатной температуре и давлении 1 атм (760 торр) дозой в 0,05МГр.

Далее проводили сравнительный анализ состава сообществ культивируемых микроскопических грибов и грибной биомассы в облученных и исходных образцах почв.

Для выделения грибов использовали метод посева почвенных суспензий, предварительно прогретых (52°C , 2 мин. [2]) для увеличения выделяемого разнообразия; посева осуществляли на твердые питательные среды — Чапека [3] и щелочной агар [4] и культивировались при 5, 25 и 37°C . Содержание биомассы грибов и ее биоморфологическую структуру оценивали методом прямой люминесцентной микроскопии при окрашивании калькофлюором белым, акридином оранжевым и этидиумом бромидом [3,5]. Идентификацию штаммов

проводили по культурально морфологическим признакам и молекулярным методом.

Численность грибных пропагул в исходных образцах пустынных почв достигала 10–100 тыс. КОЕ (колониеобразующих единиц)/г, при этом для серо-коричневой горной пустынной почвы из Марокко была характерна более высокая численность по сравнению с сероземом из пустыни Негев. Биоразнообразие горной почвы из Марокко было представлено в большей степени культивируемыми видами родов *Aspergillus* (>50% при выращивании при комнатной и повышенной температурах — *A. niger*, *A. terreus*, *A. fumigatiffinus*, *A. niveus*), *Penicillium* (>50% при выращивании при пониженной температуре — *P. crustosum*, *P. solitum*, *P. expansum*, *P. citrinum*), в меньшем количестве выделялись Mucoromycota (*Mucor sp.*), минорными компонентами при низких температурах явились дрожжи (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Aureobasidium sp.*). Биоразнообразие серозема из пустыни Негев в большей степени было представлено представителями Mucoromycota (*Actinomyces elegans*, *Zygorhynchus sp.*) и рода *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*), редкими явились *Cladosporium sp.*, *Ulocladium atrum*, виды родов *Penicillium* и *Fusarium*. В целом большим суммарным видовым разнообразием характеризовалась горная почва из Марокко.

Облучение серозема γ -лучами дозой в 100 кГр оказало активирующее воздействие на микобиоту: отмечено возрастание на два порядка численности жизнеспособных грибных КОЕ, увеличение в 1,5 раза выделяемого видового разнообразия грибов, возрастание содержания биомассы грибных спор и мицелия.

После облучения значительно изменилась структура сообщества: на доминирующие позиции вышли представители рода *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. glandicola*) и *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*), значительно потеснив представителей Mucoromycota. При этом выделены некоторые виды, не встречающиеся в исходных образцах, например *P. citrinum* (и некоторые другие виды рода *Penicillium*), *Chrysosporium pannorum*, *Emerella nidulans*, *A. terreus*, *Acremonium sp.*, *Phialophora fastigiata*.

Облучение горной почвы γ -лучами более высокой дозой в 1 МГр привело к уменьшению содержания грибной биомассы, к сокращению разнообразия грибных сообществ, подавлению роста многих видов. В данном случае также произошло изменение структуры сообщества, только еще более кардинально, чем при воздействии меньшей дозой облучения — представители рода *Penicillium* (на низких температурах) и *Aspergillus* (на комнатной и повышенной температурах) заняли доминирующие позиции, практически полностью заместив другие виды. Стоит отметить, что род *Aspergillus* был в основном представлен видом *A. niger* (до 80%), в меньшем количестве встречались *A. fumigatiffinus*, *A. flavus*, причем последний выделился только из облученного образца. Среди рода *Penicillium* доминировали виды *P. crustosum*, *P. glandicola*, *P. olivicolor*, довольно редкими были *P. puberulum*, *P. brevicompactum*, *P. expansum*, *P. miczynskii*.

Таким образом, изначально разные по структуре и видовому разнообразию сообщества двух пустынных почв после облучения разными дозами становились сходными: доминировали всего несколько видов, кото-

рые в исходных образцах были редкими или типичными, именно численность КОЕ этих видов после облучения, как правило, резко возрастала.

Облучение образцов серозема ускоренными электронами дозами в 0,05 МГр и 1 МГр привело к увеличению КОЕ в 5 раз — 11–20·10⁴, тогда как после облучения дозами в 3, 4 и 5 МГр наблюдали значительное уменьшение КОЕ до 1·10⁴. Наименьшее КОЕ регистрировали после облучения 0,05 МГр при комнатной температуре и давлении 1 атм (760 торр) — 0,3·10⁴ КОЕ/г почвы.

Наибольшее видовое разнообразие наблюдали в контрольных образцах — 25–35 видов. Число видов в облученных образцах — 13–15. Сравнительно высокое видовое разнообразие (20 видов) среди облученных образцов выявили после воздействия дозой 2 МГр. Наименьшее видовое разнообразие регистрировали после облучения 0,05 МГр при комнатной температуре и давлении 1 атм (760 торр).

После облучения ускоренными электронами изменение наблюдали и в структуре грибных сообществ: биоразнообразие значительно ниже в облученных образцах по сравнению с контрольными. После облучения дозами 1 и 2 МГр значительно возросло количество дрожжей. После воздействия дозами 3, 4, 5 МГр и 0,05 МГр при комнатной температуре и давлении 1 атм (760 торр) виды выделяли только при культивировании при 25 °С. Наиболее устойчивыми к высоким дозам облучения ускоренными электронами были *Aspergillus niger*, представители родов *Penicillium*, *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Cunninghamella*, которые были редки или вовсе не выделялись из контрольного образца.

После воздействия ускоренными электронами в малых дозах 0,05 и 1 МГр наблюдали тенденцию к уменьшению количества и биомассы грибных спор. Облучение ускоренными электронами дозой в 3, 4 и 5 МГр стимулировало прорастание мелких спор.

Облучение ускоренными электронами дозой в 0,05 МГр при комнатной температуре и давлении 1 атм (760 торр) имело наибольший стерилизующий эффект, который проявлялся в значительном сокращении численности КОЕ и числа видов. Так, при низких температуре и давлении стресс от облучения электронами оказался даже не столь существенен, чем облучение даже в минимальной дозе, но при температуре и давлении, свойственным условиям Земли.

В результате данного исследования было показано, что при воздействии крайне высоких доз ионизирующего излучения (γ -лучи и ускоренные электроны) при низких температуре и давлении, имитирующем условия существования на Марсе, жизнеспособность почвенных грибных сообществ, сформировавшихся в экстремальных условиях Земных пустынных почв, — сохраняется. Однако в результате кардинально изменяются биоразнообразие и структура сообществ. После облучения выживают наиболее устойчивые виды микроскопических грибов, происходит активация развития ряда редких или покоящихся видов грибов.

Список литературы

1. Pavlov A.K., Shelegedin V. ., Vdovina M. ., Pavlov A.A. Growth of microorganisms in Martian-like shallow subsurface conditions: Laboratory modeling

- // International Journal of Astrobiology. 2010. Vol. 9. № 1. P. 51–58.
2. Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Карасев С.Г. и соавт. Выживание микромицетов и актинобактерий в условиях длительной природной криоконсервации // Микробиология. 2001. Т. 70. № 3. С. 412–420.
 3. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. Пособие / Под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
 4. Биланенко Е.Н., Георгиева М.Л. Микромицеты солончаков Южной Сибири (Кулундинская степь) // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. Вып. 4. 6–13.
 5. Гофман А.В. Роль древесной щепы в формировании сообществ микроскопических грибов современных и средневековых городских почв: дипломная работа. М.: Изд-во МГУ, 2015. 69 с.

БИОМАССА МИКОБИОТЫ И ЧИСЛЕННОСТЬ КОПИЙ РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ITS ГРИБОВ В ПОЧВАХ СЕВЕРА НОВОЙ ЗЕМЛИ

Никитин Д.А.¹, Ксенофонтова Н.А.^{1,2}, Тхакахова А.К.¹

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

²МГУ им. М.В. Ломоносова

Несмотря на то, что микробиологические исследования Арктики начались еще в конце 19 века, эти работы не были систематическими (Кирцидели, 2009; Mazei et al., 2018). Они выявили некоторые закономерности для бактерий (Marcelli et al., 2018), но не касались микобиоты — одного из ключевых элементов наземных экосистем (Dobrovolskaia et al., 2015). Основное внимание микробиологов в Арктике сконцентрировано на изучении биоразнообразия и приуроченности прокариот и микроскопических грибов к различным биоценозам (растениям, скоплениям водорослей, птичьим базарам, скалам и т. д.) (Кирцидели, 2009, 2015; McCann et al., 2016; Никитин и др., 2019). Данных по содержанию и структуре микробной биомассы, численности копий рибосомальных и функциональных генов микроорганизмов в почвах Арктики практически не имеется (Никитин и др., 2017).

Большинство исследований, посвященных оценке количественных параметров микроскопических грибов в почвах Арктики, проведено непрямыми методами — микробиологическим посевом (Bridge, Spooner 2012; Ball, Virginia, 2014), методом фумигации-экстракции (Ananyeva et al., 2006) и др. Нам удалось найти только единичные работы по оценке грибной биомассы методом люминесцентной микроскопии на Таймыре, Аляске и Канаде (Schmidt, Bölter, 2002; Ananyeva et al., 2006; Ball, Virginia, 2014), но не для Новой Земли. Относительно подробно изучены только микромицеты донных грунтов в акваториях Баренцева и Карского морей в непосредственной близости от Новой Земли (Бубнова, Никитин, 2017). Суша архипелага не подвергалась систематическим микробиологическим анализам уже более чем 90 лет, за исключением лишь одной работы по простейшим (Mazei et al., 2018) и микромицетам (Кирцидели, 2009).

Исследования почвенного покрова в полевых условиях и отбор образцов проводили во второй половине июля 2018 года в ходе экспедиции по проекту «Арктический плавучий университет» для районов **заливов Русская Гавань**, Ледяная Гавань и Бухта Благополучия, а также мыса Желания. Почвенный покров на ключе-

вых участках представлен чередованием карбопетроземов, пелоземов гумусовых мерзлотных, пелоземов мерзлотных остаточного карбонатного, пелоземов глеевых мерзлотных, криоземов и криоземов грубогумусовых.

Образцы для микробиологических исследований отобраны с возможными мерами по предотвращению контаминаций и хранились в стерильных емкостях при температуре минус 18°C. Запасы и структуру грибной биомассы определяли методом люминесцентной микроскопии с применением флуоресцентного красителя калькофлуора белого (Полянская, Звягинцев, 2005). Учет спор и длины мицелия осуществляли на люминесцентном микроскопе «Биомед 5 ПР ЛЮМ» при увеличении 400×. Десорбцию клеток с почвы проводили при помощи **вортекса** «MSV-3500» (3500 об/мин в течении 10 мин).

Тотальную ДНК экстрагировали из почвенных образцов массой 0.2 г с помощью набора PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, США) согласно протоколу производителя. До выделения ДНК-образцы хранили при –70 °С. Первичную обработку почвенных образцов проводили гомогенизатором Precellys 24.

Количественную оценку содержания рибосомальных генов грибов осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Для учета грибов использовали праймеры на регион ITS. Реакцию проводили в амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (“Bio-Rad”). Реакционную смесь готовили из препарата SuperMix Eva Green (“Bio-Rad”). В качестве количественных стандартов концентрации генов ITS грибов использовали растворы клонированных фрагментов рибосомального оперона штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Meyen 1B-D1606. Для каждого образца реакцию проводили в 3 повторах. Концентрацию генов рассчитывали с помощью программного обеспечения CFX Manager. Концентрацию генов в препаратах ДНК пересчитывали в количество генов на грамм почвы с учетом разведений и массы навески.

Расчет грибной биомассы (мг/г почвы) проводили, полагая, что плотность спор равна 0.837 г/см³, а плот-

ность мицелия — 0.628 г/см^3 (Полянская, Звягинцев, 2005). Содержание грибной биомассы на грамм почвы рассчитывали с учетом ее влажности.

Минимальные значения биомасс (0.022 мг/г почвы) отмечены в минеральном горизонте C_{ca} пелозема мерзлотного остаточно-карбонатного района мыса Желания, а максимальные (0.109 мг/г почвы) — в горизонте WC_{ca} пелозема гумусового мерзлотного в районе Бухты Благополучия. Грибная биомасса в профилях всех исследованных почв экспоненциально уменьшается от поверхностных горизонтов к глубинным.

Наименьшее содержание мицелия (1.30 мг/г почвы) обнаружено в нижнем горизонте C_{ca} пелозема мерзлотного остаточно-карбонатного района мыса Желания, а наибольшее (166.61 мг/г почвы) — выявлено в поверхностном горизонте W_{ca} пелозема гумусового мерзлотного Ледяной Гавани. Более половины биомассы ($54.22\text{--}68.08\%$) приходится на мицелий только в 5 образцах преимущественно из верхних органогенных слоев, тогда как в остальных случаях преобладают споры, а доля гиф составляет от 3.76 до 45.18% . Около 65% мицелия представлено тонкими формами до 3 мкм в диаметре.

Грибные споры представлены мелкими формами до 3 мкм . Для каждого горизонта численность спор микобиоты составляет от 10^4 до 10^5 шт./г почвы, причем до 75% спор диаметром 2 мкм . Около 62% спор округлой формы с гладкой поверхностью; 11% округлы и шероховаты; 23% — овальные с гладкой поверхностью; 4% — имеют овальную форму с неровностями.

Численность рибосомальных генов ITS рДНК грибов для исследованных образцов варьировала в широком диапазоне от 8.87×10^6 до 7.56×10^9 копий генов/г почвы. Минимальные значения характерны для минеральных горизонтов, а максимальные — для большинства поверхностных органогенных слоев почв всех изученных районов севера Новой Земли. В целом отмечали экспоненциальное снижение количество генов грибов вниз по профилю. Исключением явился лишь пелозем гумусовый мерзлотный у Ледяной Гавани, где наибольшее количество рибосомальных генов ITS рДНК грибов аккумулировано в подповерхностном горизонте C_{ca} , вероятно, из-за криотурбаций, способствующим миграции органического вещества.

Таким образом, впервые охарактеризованы количественные показатели (биомасса и численность рибосомальных генов микобиоты почв севера Новой Земли.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00328.

Список литературы

- Бубнова Е.Н., Никитин Д.А. Грибы в донных грунтах удаленных от берега районов Баренцева и Карского морей // Биология моря. Т. 45. №5. С. 366–372. 2017.
- Кирцидели И. Ю. Микромицеты в почвах полярных пустынь. 2009. С. 232–250.
- Кирцидели И. Ю. Микроскопические грибы в почвах острова Хейса (Земля Франца-Иосифа) // Новости систематики низших растений. 2015. №49. С. 151–160.
- Никитин Д.А., Семенов М.В., Тхакахова А.К., Железова А.Д., Бгажба Н.А., Кутовая О.В. Численность копий рибосомальных генов микобиоты в почвах и почвоподобных телах Земли Франца-Иосифа и Новой Земли / Комплексная научно-образовательная экспедиция «Арктический плавучий университет — 2017», Электронный ресурс. Издательство «КИРА», Архангельск, редактор Д.Ю. Поликин. 2017. С. 35–39.
- Никитин Д.А., Семенов М.В., Семиколенных А.А., Максимова И.А., Качалкин А.В., Иванова А.Е. Биомасса грибов и видовое разнообразие культивируемой микобиоты почв и субстратов о. Нортбрук (Земля Франца-Иосифа) // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. №4. С. 210–222.
- Полянская, Л. М., & Звягинцев, Д. Г. (2005). Содержание и структура микробной биомассы как показатели экологического состояния почв. Почвоведение, (6), 706–714.
- Ananyeva N.D., Susyan E.A., Chernova O.V., Chernov I.Y., Makarova O.L. The ratio of fungi and bacteria in the biomass of different types of soil determined by selective inhibition // Microbiology. 2006. V. 75(6). P. 702–707.
- Ball B.A., Virginia R.A. Microbial biomass and respiration responses to nitrogen fertilization in a polar desert // Polar Biology. 2014. V. 37. №4. P. 573–585.
- Bridge, P. D., & Spooner, B. M. (2012). Non-lichenized Antarctic fungi: transient visitors or members of a cryptic ecosystem?. Fungal ecology, 5(4), 381–394.
- Dobrovol'skaya T.G., Zvyagintsev D.G., Chernov I.Y. et al. The role of microorganisms in the ecological functions of soils // Eurasian soil science. 2015. V. 48(9). P. 959–967.
- Mapelli F., Marasco R., Fusi M., Scaglia B., Tsiamis G., Rolli E., ... & Adani F. The stage of soil development modulates rhizosphere effect along a High Arctic desert chronosequence // The ISME journal. 2018. V. 12(5). P. 1188.
- Mazei Y.A., Tsyganov A.N., Chernyshov V.A., Ivanovsky A.A., Payne R.J. First records of testate amoebae from the Novaya Zemlya archipelago (Russian Arctic) // Polar Biology. 2018. V. 41(6). P. 1133–1142.
- McCann C.M., Wade M.J., Gray N.D., Roberts J.A., Hubert C.R., Graham D.W. Microbial communities in a high arctic polar desert landscape // Frontiers in microbiology. 2016. V. 7. P. 419.
- Schmidt N., Bölter M. Fungal and bacterial biomass in tundra soils along an arctic transect from Taimyr Peninsula, central Siberia // Polar Biol. 2002. V. 25(12). P. 871–877.

ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОЙ КРИОТУРБАЦИИ И ОБРАЗОВАНИЯ ПОЛИГОНАЛЬНЫХ ТУНДР АРКТИКИ

Павлов И.Н., Литовка Ю.А.

Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

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

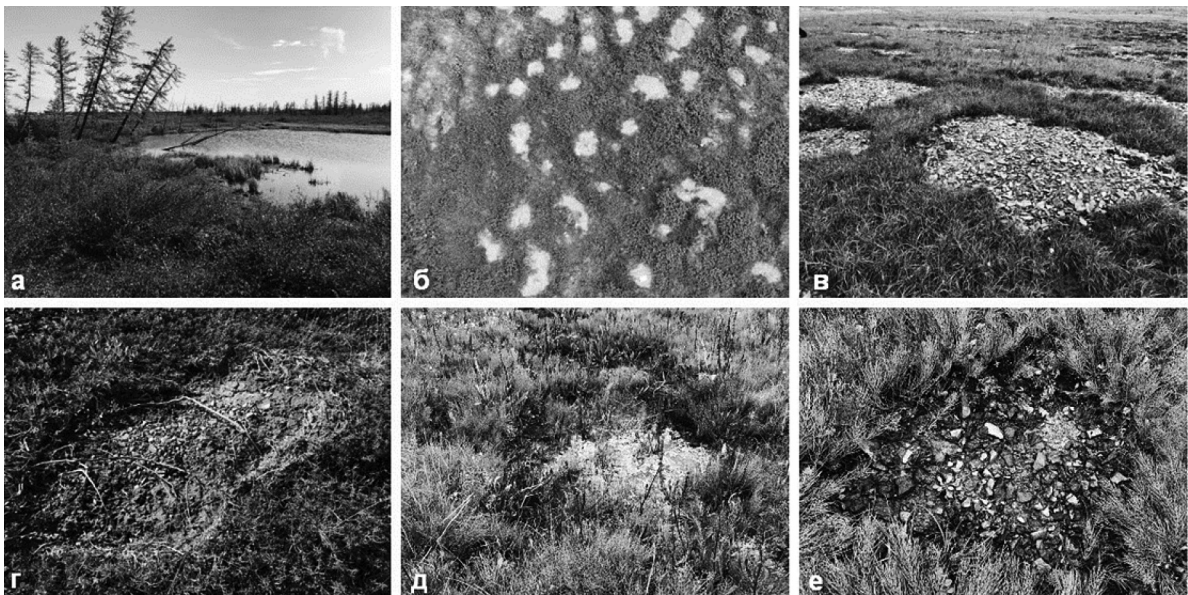
Арктика — регион, в котором наблюдается наиболее значительное повышение температуры приземного слоя воздуха в ответ на глобальное потепление [1]. Согласно будущим сценариям выбросов парниковых газов прогнозируется, что они будут примерно в три раза выше среднемирового. Повсеместно проявляются явные признаки интенсивного оттаивания вечной мерзлоты [2,3]. Усиленный климатический отклик в Арктике, а также широко распространенные полигональные грунты, «пятна-медальоны», талики (рисунки а–в) и термокарст делают этот регион особенно восприимчивым к переломным моментам в изменениях ландшафта, почвы и растительности. Нарушения, связанные с замерзанием и оттаиванием активного слоя (криотурбация), являются ключевыми гидрологическими процессами, формирующими арктическую тундру. Ландшафты с сильно нарушенными почвами из-за криотурбации могут меняться быстрее, чем участки с более устойчивыми растительными сообществами. Пятна-медальоны — глинистые пятна округлой или неправильной формы диаметром от 0,5 до 2,5 м, как правило, лишены растительности из-за чрезмерной криотурбации почвы. В историческом прошлом (определено по радиоуглеродным датам погребенного органического материала), их образование совпадало с переходом от более длительных холодных периодов к более теплым условиям [4].

В исследуемом регионе (юго-запад полуострова Таймыр) нами установлены разнонаправленные процессы: а) образование новых «медальонов» или активи-

зация сформировавшихся в прошлом (рисунки г–е); б) затухание криотурбации, образование криптогамных почвенных биопленок и заселение кустарниковой и травянистой растительностью. Постепенные процессы фрагментарного оттаивания почв и образования таликов/пятен-медальонов могут ускорить деградацию вечной мерзлоты и изменить почвенное дыхание, в конечном итоге сдвигая углеродный баланс экосистем, подверженных вечной мерзлоте, от долгосрочных стоков к долговременным источникам углерода и других парниковых газов. Почвы криолитозоны (15% глобальной площади) хранят около 60% мирового почвенного углерода в [5]. Благодаря увеличению проективного покрытия и высоты кустарниковой растительности, способствующей дополнительному снегонакоплению (сохранение теплоемкости грунта и разрушение вечной мерзлоты), в определенных условиях рельефа происходит быстрое заболачивание лишайничников и их превращение в кустарничково-осоковая тундру.

Значительное увеличение сезонно талого слоя при оптимизации дренажного режима сопровождается постепенным зарастанием пятен-медальонов. Захороненный в течение предыдущих тысячелетий в результате криотурбации органический материал становится более доступным для активной микробиологической трансформации. Появляющиеся в процессе сукцессии растения создают дополнительные оптимальные условия для роста и развития бактерий и особенно грибов. Долгосрочные исследования демонстрируют существенное влияние быстрых изменений климата в

Рисунок — Образование криогенных форм микрорельефа в юго-западной части полуострова Таймыр
а — активно развивающийся радиационно-тепловой талик; б — «пятна-медальоны» с высоты квадрокоптера; в — пятна-медальоны; г — активизация «морозного кипения» при развитии «пятен-медальонов»; д, е — образование новых «медальонов» в результате фрагментарного оттаивания почвы (начальная (д) и последующие (е) стадии развития)



Арктике на грибные/бактериальные сообщества [6–9]. Хотя иногда в модельных экспериментах (в камерах с открытым верхом) обнаруживается лишь слабое влияние потепления на симбиотическое сообщество грибного мицелия с корнем *Cassiope tetragona* (L.) D. Don [9]. Возможно из-за короткого периода наблюдений (6 лет).

В целом, исследования показывают, что почвенные грибные сообщества в Арктике относительно медленно реагируют на локальные изменения климата, причем потепление вызывает выраженные изменения в микробиоценозе через один или два десятилетия [8,10].

Для исследования микробиома были выполнены почвенные разрезы, поперечно пересекающие «медальоны» и прилегающие к ним участки без ярко выраженной криотурбации, покрытые типичной тундровой растительностью. Глубина взятия образцов до 90 см. Для получения данных о термическом режиме на той же глубине были размещены автоматические регистраторы температуры. Почвенные образцы использовали для определения общей численности микроорганизмов, соотношения отдельных физиологических групп [11] и выделения чистых культур микромицетов [12]. Видовую идентификацию подтверждали секвенированием участков генетических маркеров ITS и TEF-1alpha. Тотальную ДНК из почвы выделяли с помощью набора DNA Spin Kit for Soil (Qiagen). Качество ДНК оценивали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле; количество — на Qubit (Life Technologies) и Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Секвенирование суммарного ITS ампликона проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina), используя набор Reagent Kit v3 (2x300, Illumina). Все молекулярно-генетические исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск).

Исследование почвенного микробиоценоза «медальонов» свидетельствует о невысокой численности эубактерий и микромицетов в верхних горизонтах почвы и относительно низком биоразнообразии. Общая численность микроорганизмов в верхних горизонтах «медальонов» (0–20 см) составила $0,5\text{--}2,7 \cdot 10^5$ кое·г⁻¹ и была существенно ниже по сравнению с участками, покрытыми тундровой растительностью ($8,2\text{--}11,6 \cdot 10^5$ кое·г⁻¹). Количественные показатели микробиома с глубиной изменялись более плавно: на отметках 50 и 90 см общая численность микроорганизмов была соответственно в 3,4 и 7,2 раз ниже по сравнению с верхними горизонтами. На участках, покрытых растительностью, изменения численности были более значительными — в 22,4–32,7 раза.

Таксономическую структуру микобиоты «медальонов» на глубине до 20 см составляют преимущественно Ascomycota (Sordariomycetes, Leotiomycetes, Eurotiomycetes) — до 79%. Реже встречаются Basidiomycota (Agaricomycetes, Tremellomycetes), Mucoromycota (Umbelopsidomycetes) и Mortierellomycota (Mortierellomycetes) — до 15, 3 и 4% соответственно. Молекулярно-генетическая верификация чистых культур грибов позволила идентифицировать виды аскомицетовых и мукоромицетовых грибов: *Penicillium simplicissimum* (Oudem.) Thom, *Penicillium ochrochloron* Biourge, *Penicillium janczewskii* K.M. Zalessky (Eurotiomycetes), *Tolypo-*

cladium inflatum W. Gams (Sordariomycetes), *Umbelopsis vinacea* (Dixon-Stew.) Arx (Umbelopsidomycetes) и *Mortierella* sp. (Mortierellomycetes).

Таксономическая структура микобиоты на прилегающих участках, покрытых тундровой растительностью, была схожа, но с менее выраженным доминированием аскомицетовых грибов. Помимо типичных сапротрофов, обнаруженных в медальонах, из почвенных образцов были выделены чистые культуры эндофитных и фитопатогенных представителей Dothideomycetes (Ascomycota): *Phoma herbarum* Westend, *Stagonospora trichophoricola* Crous & Quaedvlieg, *Paraphoma radicina* (McAlpine) Morgan-Jones & J.F. White и *Didymella* sp.

Список литературы

1. IPCC Special Report on the Oceans and Cryosphere in a changing climate. Intergovernmental Panel on Climate Change. Chapter 3: Polar regions, 2019.
2. Nicolsky D.J., Romanovsky V.E., Panda S.K., Marchenko, S.S., Muskett R. R. Applicability of the ecosystem type approach to model permafrost dynamics across the Alaska North Slope. *Journal of Geophysical Research: Earth Surface*. 2017. 122(1). 50–75.
3. Box J.E., Colgan W.T., Christensen T.R. et al. Key indicators of Arctic climate change: 1971–2017. *Environmental Research Letters*. 2019. 14(4), 045010.
4. Becher M., Olid C., Klaminder J. Buried soil organic inclusions in non-sorted circles fields in northern Sweden: Age and Paleoclimatic context // *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*. 2013. Т. 118. №. 1. P. 104–111.
5. Schuur E.A.G., McGuire A.D., Schädel C. et al. Climate change and the permafrost carbon feedback. *Nature*. 2015. 520. 171–179.
6. Clemmensen K.E., Michelsen A. Integrated long-term responses of an arctic — alpine willow and associated ectomycorrhizal fungi to an altered environment // *Botany*. 2006. Т. 84. №. 5. С. 831–843.
7. Rinnan R., Michelsen A., Bååth E., Jonasson S. Mineralization and carbon turnover in subarctic heath soil as affected by warming and additional litter. *Soil Biology and Biochemistry*. 2007. 39(12). 3014–3023.
8. Deslippe J.R., Hartmann M., Mohn W.W., Simard S.W. Long-term experimental manipulation of climate alters the ectomycorrhizal community of *Betula nana* in Arctic tundra. *Global Change Biology*. 2011. 17. 1625–1636.
9. Lorberau K.E., Botnen S.S., Mundra S. et al. Does warming by open-top chambers induce change in the root-associated fungal community of the arctic dwarf shrub *Cassiope tetragona* (Ericaceae). *Mycorrhiza*. 2017. 27(5). 513–524.
10. Fujimura K.E., Egger K.N., Henry G.H. The effect of experimental warming on the root-associated fungal community of *Salix arctica*. *The ISME Journal*. 2008. 2(1). 105–114.
11. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: изд-во МГУ. 1991. 303 с.
12. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка. 1982. 552 с.

МИКРОМИЦЕТЫ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЗОН УЗБЕКИСТАНА

Таипулатов Ж.Ж., Бахтиерова М., Зайнитдинова Л.И.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Одной из экстремальных зон Узбекистана всемирно признана территория Аральского моря и прилегающих к нему территорий. Это уникальный объект, в котором сосредоточена сумма экстремальных факторов, включающий многообразие биотопов с различными экосистемами, характеризуется низким уровнем содержания гумуса и азота, что свидетельствует о том, что данная область является специфическим регионом, где большая часть территории подвержена опустыниванию и засолению. Такое сочетание неблагоприятных факторов является серьезным затруднением при освоении почв. Большое количество пыльных бурь, характерных для данного региона способствовало дополнительному перемещению различных химических соединений, в том числе пестицидов, закрепленных в верхних слоях почвы.

Микроорганизмы, обитающие в природных условиях Южного Приаралья, должны отличаться рядом свойств, т. е. засоленные почвы могут являться источником экстремальных форм жизни, адаптированных к суровым условиям существования и обладающих рядом уникальных свойств. Учитывая огромную пластичность бактерий, их тесную зависимость от среды обитания, можно ожидать существование форм бактерий с рядом ценных свойств и имеющих огромное значение в биотехнологии и для ряда других практических задач.

Проведенный нами микробиологический анализ позволил выделить различные микромицеты, среди которых преобладали грибы, отнесенные нами к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* и *Candida*. Колонии довольно медленно растущие. Эти микроорганизмы опробованы на чувствительность по отношению к хлорпирифос + циперметрин. Исследования по определению минимальной ингибирующей концентрации данной смеси пестицидов показали, что штаммы, выделенные из зон Южного Приаралья, показали значительную устойчивость к исследуемым пестицидам. Представленные данные по росту *Alternaria sp.* шт. 4 на агаризованных средах свидетельствуют о низкой скорости роста на средах с пестицидами. Исследуя биосинтез белка *Alternaria sp.* шт. 4 следует отметить, что максимальные показатели отмечаются на лишь классической среде Чапека. Наличие хлорпирифос+циперметрина в среде в некоторой степени угнетает рост и соответственно биосинтетическую активность. Определено, что данные микроорганизмы могут использовать пестициды в качестве единственного источника углерода, при этом деструкция их достигает 81,3%.

Таким образом, выделенный из зон Южного Приаралья микроскопический гриб — *Alternaria sp.* 4a способен расти и развиваться как на классических средах, так и на синтетических средах с добавлением пестицидов.

ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ НА СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Терешина В.М.¹, Януцевич Е.А.¹, Бондаренко С.А.^{1,2}, Данилова О.А.¹, Биланенко Е.Н.²

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

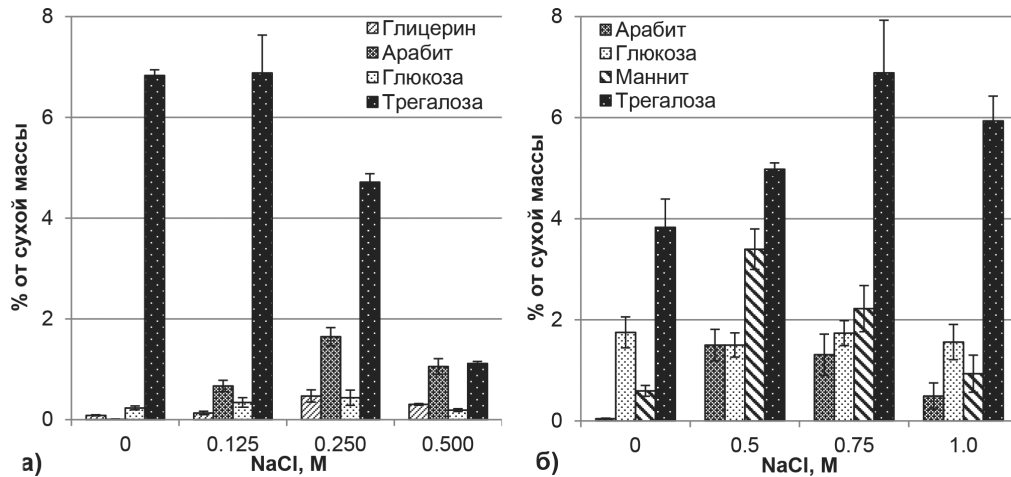
Введение. В динамично меняющемся мире общебиологическая проблема адаптации организмов к стрессорным воздействием становится ключевой. В изучении этой проблемы у грибов выделяют два направления: исследование адаптивных ответов на стрессоры у неэкстремофильных организмов и изучение защитных механизмов у экстремофильных грибов. Экстремофилы делят на группы по оптимальным условиям роста, включая температуру (психрофилы, термофилы), pH (ацидофилы и алкалофилы), давление (барофилы), ионную силу (галофилы) [1]. Среди защитных механизмов грибов ключевое значение имеют осмолитная система и поддержание мембран в функциональном состоянии.

По современным представлениям, органические осмолиты являются не только «совместимыми соединениями» (compatible solutes), как считалось ранее [2], но и метаболическими и нейтрализующими цитопротекторами [3]. У грибов осмолиты представлены, в основном трегалозой и полиолами. Трегалоза, в отличие от поли-

олов, обладает способностью встраиваться в мембраны и стабилизировать их в условиях стрессорных воздействий. Другим способом защиты мембран является изменение их состава и вязкости. В последнее время значительно возросло внимание к небислойным липидам, так как предполагается их участие в образовании таких мембранных микродоменов как рафты, кальвеолы, эйзосомы, участки мембран, устойчивые к действию детергентов [4–6]. Показана роль мембранных липидов в восприятии внешних сигналов, регуляции активности ферментов и экспрессии генов, внутриклеточном транспорте белков, эндо- и экзоцитозе, вирулентности [7–9].

Ранее нами было установлено, что ключевое значение для термофилов [10] и алкалофилов [11] имеют два фактора — большое количество трегалозы в цитозоле и преобладание фосфатидных кислот (ФК) в составе мембранных липидов. В связи с этими данными возникает вопрос — как термофилы и алкалофилы, имеющие мощную трегалозную защиту, реагируют на другие стрессоры?

Рисунок — Состав основных растворимых углеводов и полиолов цитозоля в условиях действия осмотического шока а) — у термофильного гриба *R. miehei*, б) — у алкалофильного гриба *S. tronii*



Цель работы — изучить состав осмолитов и мембранных липидов у алкалофила *Sodiomyces tronii* и термофила *Rhizomucor miehei* под действием теплового (ТШ), холодного (ХШ) и осмотического (ОШ) шоков.

Объекты и методы. В качестве объектов исследования были выбраны алкалофильный микромицет *Sodiomyces tronii*, Grum-Grzhim., Debets & Bilanenko CBS 137620 и термофил *Rhizomucor miehei* (Cooney et R. Emerson 1964) Schipper 1978 VKM F-1365.

S. tronii инкубировали на чашках Петри при оптимальной температуре (32°C) в течение 7 сут. Для создания ХШ культуру переносили в условия 5 °С и инкубировали 3 и 6 ч. Для создания ОШ культуры на целлофановой подложке переносили на чашки Петри со средами, содержащими 0,5; 0,75 и 1,0 М NaCl, и инкубировали 6 ч. Для создания ТШ чашки Петри помещали в условия 45–46 °С и инкубировали 3 и 6 ч. Контрольные варианты выращивали такое же время при оптимальных условиях.

Для создания ХШ глубинную культуру гриба *R. miehei*, выращенную в оптимальных условиях (40 °С) до стадии трофофазы (24 ч), переносили, сохраняя условия аэрации, в условия 20 °С на 3 и 6 ч., для создания ТШ — в условия 50 °С. Чтобы создать ОШ, вносили NaCl до концентрации 0,125; 0,25 и 0,5 М и культивировали еще 3 и 6 ч.

Разделение нейтральных липидов проводили с помощью одномерной ТСХ, фосфо- и сфинголипидов — с помощью двумерной ТСХ на стеклянных пластинках с силикагелем 60 (Merck, Германия). Для идентификации липидов использовали индивидуальные метчики и качественные реакции. Количественный анализ липидов проводили методом денситометрии с использованием программы Dens («Ленхром», Россия) по калибровочным кривым на основе стандартных растворов. Для определения ЖК состава мембранных липидов получали МЭЖК и анализировали методом ГЖХ.

Экстракцию растворимых сахаров мицелия проводили кипящей водой в течение 20 мин четырехкратно. Из полученного экстракта удаляли белки. Дальнейшую очистку экстракта углеводов от заряженных соединений проводили, используя комбинированную колонку

с ионообменными смолами. Состав углеводов определяли методом ГЖХ, получая из лиофильно высушенного экстракта триметилсилильные производные сахаров.

Результаты. Для того чтобы понять, как мощная трегалозная защита влияет на адаптацию термофилов и алкалофилов к другим стрессорам в настоящем исследовании были изучены изменения в составе мембранных липидов и углеводов цитозоля у термофильного гриба *R. miehei* и алкалофила *S. tronii* под действием ХШ, ОШ и ТШ.

В ответ на действие ХШ у *R. miehei* не обнаружено накопления глицерина в мицелии, а количество трегалозы снижалось, тогда как у *S. tronii* — не изменялось. Основные изменения в составе мембранных липидов под действием ХШ у *R. miehei* касались роста доли ФК на фоне снижения стеринов (Ст), повышения степени ненасыщенности полярных липидов, а у *S. tronii* изменений не наблюдалось.

В ответ на осмотический шок, несмотря на высокий уровень трегалозы, в мицелии грибов дополнительно накапливаются полиолы (рис. 1). Несмотря на низкую способность мукоровых грибов синтезировать полиолы, под действием ОШ у *R. miehei* наблюдался рост долей глицерина и арабита, составляющих до 25% суммы (рисунок а). Такая же закономерность наблюдалась и у *S. tronii*, только увеличивалось количество арабита и маннита до 50% от суммы (рисунок б). Устойчивость алкалофила к осмотическому шоку значительно выше, чем у термофила и при повышении концентрации хлорида натрия до 1,0 М, кроме полиолов, увеличивается и уровень трегалозы. Полученные данные доказывают, что высокого уровня трегалозы в мицелии грибов недостаточно для защиты от осмотического шока — необходимы и полиолы. Осмотическое воздействие не вызывало заметных изменений в составе мембранных липидов у обоих грибов.

Ответ на тепловой шок у термофильного и алкалофильного гриба принципиально различались. У термофила ТШ приводит к снижению уровня трегалоз, а у алкалофила — к повышению. В составе мембранных липидов у термофила повышается доля ФК и Ст, тогда как у алкалофила доля ФК снижается.

В итоге, исследование состава осмолитов экстремофилов показало, что, несмотря на высокий уровень трегалозы в мицелии, под действием ОШ необходимо накопление полиолов, что указывает на их специфическую роль. Под влиянием ТШ у алкалофила, как и у мезофильного гриба, несмотря на высокий уровень трегалозы в мицелии, происходит двукратное его увеличение, напротив, у термофила количество трегалозы значительно снижается, что указывает на неспособность термофилов адаптироваться к ТШ. ХШ вызывает небольшое снижение уровня трегалозы у термофила, тогда как у алкалофила изменений не наблюдается. Учитывая тот факт, что ни у одного из экстремофилов не наблюдалось образования полиолов, можно заключить, что трегалоза играет роль протектора при ХШ.

В составе мембранных липидов у алкалофила под воздействием всех изученных стрессоров не обнаружено значительных изменений, тогда как у термофила под действием ТШ увеличиваются доли ФК и Ст, а в условиях ХШ также наблюдался рост доли ФК, но на фоне снижения Ст и увеличения степени ненасыщенности фосфолипидов.

Полученные результаты позволяют заключить, что для экстремофилии осмолитная система имеет ключевое значение.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-04-00488.

Список литературы

- Weber APM, Horst RJ, Barbier GG, Oesterhelt C. Metabolism and Metabolomics of Eukaryotes Living Under Extreme Conditions. *Int. Rev. Cytol.*, vol. 256, 2007, p. 1–34. doi:10.1016/S0074-7696(07)56001-8.
- Brown AD, Simpson JR. Water relations of sugar-tolerant yeasts: the role of intracellular polyols. *J Gen Microbiol* 1972;72:589–91. doi:10.1099/00221287-72-3-589.
- Yancey PH. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *J Exp Biol* 2005;208: 2819–30. doi:10.1242/jeb. 01730.
- Vigh L, Escribá P V, Sonnleitner A, Sonnleitner M, Pizzato S, Maresca B, et al. The significance of lipid composition for membrane activity: new concepts and ways of assessing function. *Prog Lipid Res* 2005; 44: 303–44. doi:10.1016/j.plipres.2005.08.001.
- Douglas LM, Konopka JB. Fungal Membrane Organization: The Eisosome Concept. *Annu Rev Microbiol* 2014. doi:10.1146/annurev-micro-091313-103507.
- Carquin M, D'Auria L, Pollet H, Bongarzone ER, Tyteca D. Recent progress on lipid lateral heterogeneity in plasma membranes: From rafts to submicrometric domains. *Prog Lipid Res* 2016;62:1–24. doi:10.1016/j.plipres. 015.12.004.
- McMahon HT, Gallop JL. Membrane curvature and mechanisms of dynamic cell membrane remodelling. *Nature* 2005;438:590–6. doi:10.1038/nature04396.
- Rella A, Farnoud AM, Del Poeta M. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. *Prog Lipid Res* 2016;61:63–72. doi:10.1016/j. plipres. 2015.11.003.
- Welte MA, Gould AP. Lipid droplet functions beyond energy storage. *Biochim Biophys Acta — Mol Cell Biol Lipids* 2017;1862:1260–72. doi:10.1016/j.bbali. 2017.07.006.
- Ianutsevich EA, Kotlova ER, Danilova OA, Tereshina VM, Groza N V. Heat shock response of thermophilic fungi: membrane lipids and soluble carbohydrates under elevated temperatures. *Microbiology* 2016; 162: 989–99. doi:10.1099/mic. 0.000279.
- Bondarenko SA, Ianutsevich EA, Danilova OA, Grum-Grzhimaylo AA, Kotlova ER, Kamzolkinina OV, et al. Membrane lipids and soluble sugars dynamics of the alkaliphilic fungus *Sodiomyces tronii* in response to ambient pH. *Extremophiles* 2017; 21: 743–54. doi:10.1007/s00792-017-0940-4.

МИКРОМИЦЕТЫ ОЧАГОВ ПЛЕСНЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ ДРЕВЕСИНЫ В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

Тригубович А.М.¹, Гончарова И.А.², Гигиняк Ю.Г.³, Иванов И.В.²

¹ *Институт микробиологии НАНБ, Минск*

² *Белорусский государственный музей народной архитектуры и быта*

³ *Научно-практический центр НАНБ по биоресурсам, Минск*

Белгосмузей народной архитектуры и быта создавался рядом с Минском для сохранения и демонстрации традиционного деревянного зодчества и предметов быта. Это музей под открытым небом (скансен) функционирует круглогодично, количество посетителей постоянно растет. В музее серьезное внимание уделяют защите строений и экспонатов не только от дереворазрушающих, но и от плесневых грибов, учитывая их негативное воздействие на сохранность музейных объектов и здоровье людей. Строения музея хорошо проветриваются, поэтому процессов плесневения экспонатов в летнее время практически не наблюдается даже в дождливую погоду,

но поздней осенью, ранней весной и даже зимой при положительных температурах постоянно бывают вспышки появления очагов плесневого поражения.

Систематические микологические обследования музея показали, что в холодную пору года деревянные строения наиболее подвержены колонизации микромицетами во время реставрационных работ или вскоре после их окончания. В старых строениях в такие периоды колонии микроскопических грибов чаще всего появляются на деревянных строительных конструкциях и предметах быта, прошедших огне- и/или биозащитную обработку.

Рисунок 1. Влияние температуры на рост на ЧД-КМЦ штаммов *Phoma herbarum*, колонизировавших древесину в Антарктиде (А) и музее-скансене (М)

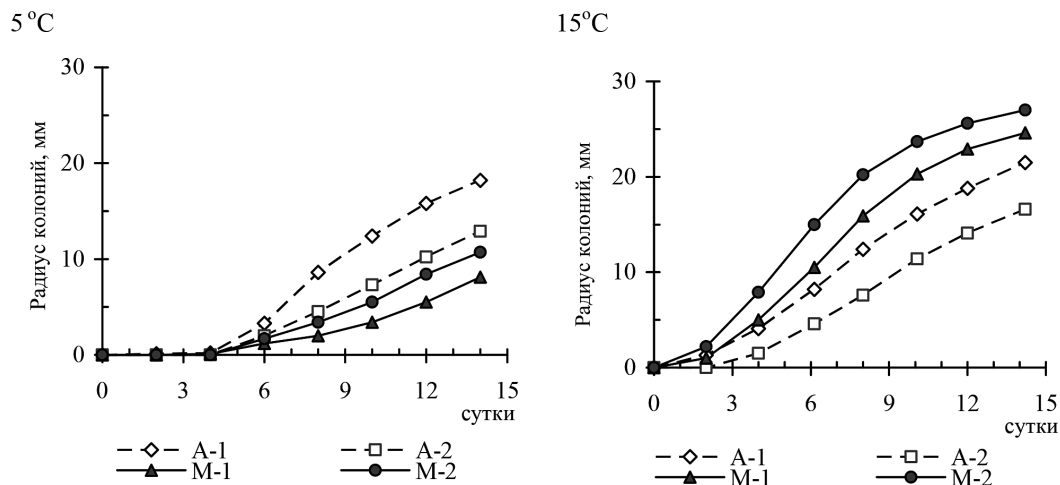
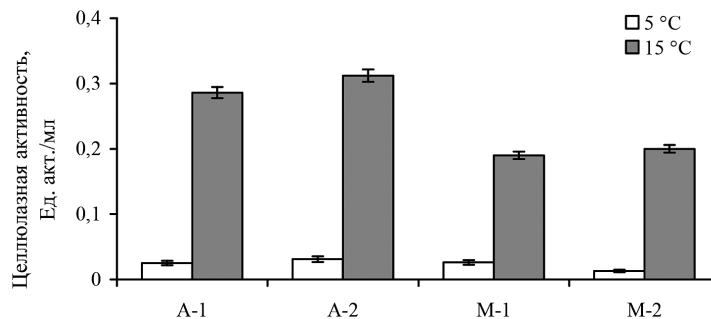


Рисунок 2. Влияние температуры на целлюлазную активность среды после 14 сут глубинного культивирования в среде ЧД-КМЦ штаммов *Phoma herbarum*, колонизировавших древесину в Антарктиде (А) и музее-скансене (М)



При исследовании колонизации древесины в условиях низких температур пробы, взятые в зимний период из участков с признаками плесневого поражения, высевали на агаризованную среду Чапека-Докса с карбоксиметилцеллюлозой в качестве источника углерода (ЧД-КМЦ). Посев производили 4 диаметральными штрихами из капли водной суспензии пробы. Такой способ посева облегчает определение агентов плесневого поражения, дающих характерную картину доминирования при высокой контаминированности пробы. Чашки инкубировали при температуре 5 и 15 °C.

Большинство изолятов при 15 °C росли значительно быстрее, чем при 5 °C, но доминирующие культуры были, как правило, те же. Таксономическое разнообразие сопутствующей микобиоты при 15 °C было довольно широким, колонии быстрорастущих изолятов заполняли межштриховое пространство, поэтому для выделения доминантов в чистую культуру их пересевали штрихами, 2 суток выдерживали при 15 °C, а затем переносили в холодильник.

Анализ результатов микологических обследований за последние годы показал, что наиболее обширные очаги плесневого поражения образует гриб *Trichoderma viride*. На свежей древесине, используемой для реставрации, гриб формировал плотные колонии с яркими зелеными спорами, а в небольших деревянных домиках он периодически появлялся в виде белых паутинистых налетов на потолочных балках, обработанных био- и огнезащитным составом. В хозяйственных строениях с глинобитными полами

чаще выявлялась не анаморфа данного вида, а его телеоморфа (*Hypocrea muroiana*) с плотным белым мицелием и плодовыми телами, бугристый гименофор которых, напоминал сухие карпофоры домашнего гриба *Serpula lacrymans*. Для идентификации гриба были использованы молекулярно-генетические методы, которые показали 100% соответствие с нуклеотидными последовательностями *Hypocrea muroiana*. Изучение дереворазрушающей способности гриба установило, что данный вид оказывает негативное воздействие на прочность древесины, хотя не столь значительное, как домовые грибы. При температуре 5 °C потеря массы образцов заболони сосны (20x20x5 мм) после 2 месяцев контакта с *H. muroiana* составила 6,2%, при повышении температуры до 15 °C — 8,5%, что превышает предел операционных потерь (5%).

Большое таксономическое разнообразие агентов плесневого поражения выявлено в недавно отреставрированной мельнице. За зиму на деревянных досках внутри появились колонии представителей родов *Alternaria*, *Penicillium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Ulocladium*. Центральные вал мельницы был покрыт сероватым ватообразным мицелием гриба р. *Botrytis*. Доски наружной обшивки мельницы с защитной пропиткой были усыпаны мелкими черными колониями гриба *Aureobasidium pullulans*, который при 5 °C рос лучше, чем при 15 °C.

В одной из хозяйственных построек музея на отдельных участках старого глинобитного пола с добавлением соломы и опилок в зимний период при плюсовых температурах эпизодически появлялись белые

Таблица 1 — Влияние активности воды на плотность биомассы газона штаммов *Phoma herbarum*, выделенных из древесины, находившихся в Антарктиде (А) и музее (М)

Культура	Биомасса газона (Б), мг/см ²		$K_{\text{кс}} = B_{0,92} / B_{0,99}$
	$a_w 0,99$	$a_w 0,92$	
<i>Ph. herbarum</i> А-1	3,70±0,20	2,70±0,12	0,73
<i>Ph. herbarum</i> А-2	2,32±0,26	2,50±0,25	1,07
<i>Ph. herbarum</i> М-1	3,24±0,30	0,77±0,15	0,24
<i>Ph. herbarum</i> М-2	3,12±0,19	0,66±0,09	0,21

высокие колонии *Rhizopus stolonifer*, которые через несколько дней темнели и исчезали.

Достаточно часто на деревянных конструкциях и изделиях встречался гриб *Phoma herbarum*. Выявление его таксономической принадлежности классическими способами вызывало определенные трудности из-за вариабельности по окраске, поэтому принадлежность изолятов виду *Ph. herbarum* подтверждали молекулярно-генетической идентификацией.

Грибы рода *Phoma* входят в число наиболее распространенных деревоокрашивающих грибов, вопрос насколько данные грибы способны разрушать древесину пока остается открытым. В то же время эти грибы встречаются при описании микобиоты и характера биоповреждения исторических деревянных домов первых поселенцев Антарктики [1,2]. Нами также выделено несколько штаммов *Ph. herbarum* из фрагментов досок с плесневыми налетами, привезенных из антарктических экспедиций Ю.Г. Гигиняком.

Сравнительное изучение ростовой активности *Ph. herbarum* в условиях низких температур показало, что антарктические изоляты при 5°C растут быстрее музейных, но при 15 °C скорость роста колоний у них ниже (рисунок 1).

Пораженные доски были обнаружены Ю.Г. Гигиняком внутри заброшенного сборно-щитового домика в Восточной Антарктиде и имели очаги разрушения древесины по типу мягкой гнили. Однако локализация очагов дает основание полагать, что вызваны они скорее не *Phoma*, а доминирующим грибом рода *Ceratocystis*.

Определение целлюлазной активности (эндо-1,4-D-глюконаза) штаммов *Ph. herbarum* проводили с использованием растворимого окрашенного субстрата Remazol Brilliant [3]. Грибы растили в колбах с ЧД-КМЦ на термостатируемых качалках в течение 14 суток. При 15 °C целлюлазная активность антарктических штаммов была в примерно в 1,5 раза выше, чем музейных, но при 5°C этот параметр у всех культур был на очень низком уровне (рисунок 2).

Можно предположить, что суровый климат Восточной Антарктиды не позволяет грибам р. *Phoma* реализовать свой разрушительный потенциал. Однако в умеренном климате Беларуси, где погода в последние годы отличается мягкими зимами с частыми оттепелями, эти микромицеты могут представлять реальную опасность сохранности древесины музеев под открытым небом.

Большинство плесневых грибов, поражающих строительные материалы при пониженных температурах, проявляют высокую чувствительность к влажности. Минимальным значением активности воды при 5°C, когда возможна колонизация микромицетами чувствительных к биоповреждению материалов, считается $a_w 0,90$ [4].

Для сравнения степени ксеротолерантности штаммов *Ph. herbarum* грибы высевали газоном на ЧД-КМЦ с 12 % NaCl и без него. Критерием оценки служила биомасса, которую отделяли от агаризованной среды горячим фильтрованием, после чего высушивали и рассчитывали выход биомассы с единицы площади чашки Петри. Отношение биомассы на среде с NaCl ($a_w 0,92$) и в контроле ($a_w 0,99$) было принято за коэффициент ксеротолерантности ($K_{\text{кс}}$).

Все исследованные культуры проявили способность расти на среде с пониженной активностью воды. Однако у *Ph. herbarum* М-1 и М-2 $K_{\text{кс}}$ был довольно низким, в пределах 0,2. Антарктические изоляты были менее требовательны к влажности. Коэффициент ксеротолерантности у антарктических изолятов был в 3–5 раз выше, чем у музейных, $K_{\text{кс}}$ *Ph. herbarum* А-2 был даже больше единицы (таблица 1).

Повышение в последние годы исследовательской, хозяйственной и туристической активности в Антарктике создает реальную опасность интродукции в ее экосистемы чужеродных организмов с непредсказуемыми последствиями. Это опасение касается и ксилотрофных грибов [4]. Белорусские специалисты также начали разработку системы микологической безопасности в различных областях общественной деятельности, включая полярную антарктическую станцию.

Список литературы

- Blanchette RA, Held BW, Jurgens JA et al. Wood-destroying soft rot fungi in the historic expedition huts of Antarctica // Appl Environ Microbiol.– 2004. — V. 70. — P. 1328–1335
- Held B.W., Jurgens J.A., Arenz B.E., Duncan S.M., Farrell R.L., Blanchette R.A. Environmental factors influencing microbial growth inside the historic expedition huts of Ross Island, Antarctica // International Biodeterioration & Biodegradation.– 2005.– V. 55.– P. 45–53
- Баразенок В.А., Анкудимова Н.В., Синицын А. П. и др. Сравнительное исследование методов определения активности целлюлаз с помощью окрашенных и неокрашенных производных целлюлозы // Биохимия. — 1997. — Т. 62, № 7. — С. 886–893.
- Nielsen K.F., Holm G., Uttrupa L.P., Nielsen P.A. Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism //International Biodeterioration & Biodegradation– 2004.– V. 54.– P. 325–336
- Osyczka P., Mleczo P., Karasinski D., Chlebicki A.. Timber transported to Antarctica: a potential and undesirable carrier for alien fungi and insects // Biol Invasions.– 2012.– V. 14.– P. 15–20.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 8

Выпуск 3.

Паразитизм и симбиоз

Глава 6.

Лишайники

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.06

Глава 7.

Взаимоотношения грибов, бактерий и растений. Микориза

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.07

Глава 8.

Дереворазрушающие грибы

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.08

Volume 8

Issue 3.

Fungal parasitism and symbiosis

Chapter 6.

Lichenology

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.06

Chapter 7.

Fungal relations to bacteria and plants. Mycorrhiza

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.07

Chapter 8.

Parasitic fungi on trees and fungal wood decay

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.08

Содержание выпуска 3

Глава 6. Лишайники

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ СТАДИЙ ЦИАНОЛИШАЙНИКА <i>PELTIGERA PRAETEXTATA</i> Андросова В.И., Солодянкин П.А.	151
МОНИТОРИНГ РЕДКИХ ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ НА ООПТ И В МАЛОНАРУШЕННЫХ ЛЕСАХ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ Аристархова Е.А., Мучник Е.Э., Сулова Е.Г.	153
НОВЫЕ НАХОДКИ РЕДКИХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ В ТОРОПЕЦКОМ РАЙОНЕ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ Бирюкова Е.В., Мучник Е.Э., Леднев С.А.	155
НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ РАЗНООБРАЗИЯ ЛИХЕНОБИОТЫ ОХРАНЯЕМЫХ ПАРКОВ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА Черепенина Д.А., Мучник Е.Э.	157
ОХРАНЯЕМЫЕ ВИДЫ ЛИШАЙНИКОВ НА САЛАИРСКОМ КРЯЖЕ (АЛТАЙСКИЙ КРАЙ) Давыдов Е.А., Яковченко Л.С.	159
ЭЛЕКТРОННЫЙ ЧЕК-ЛИСТ ЛИШАЙНИКОВ САХАЛИНА И КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ Давыдов Е.А., Яковченко Л.С., Галанина И.А., Ежкин А.К., Конорева Л.А., Чесноков С.В., Пауков А.Г., Фролов И.В., Омура Й.	161
ИЗУЧЕНИЕ ЛИХЕНОФЛОРЫ ТИГИРЕКСКОГО ЗАПОВЕДНИКА Давыдов Е.А., Яковченко Л.С.	162
СОСТОЯНИЕ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ ЦИАНОЛИШАЙНИКА <i>LOBARIA PULMONARIA</i> (L.) HOFFM. НА СЕВЕРНОМ КРАЮ АРЕАЛА (РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ) Игнатенко Р.В., Тарасова В.Н.	163
ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ЛИШАЙНИКАХ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «КАНЬОНООБРАЗНЫЙ УЧАСТОК РЕКИ ВЕЛИКОЙ» (ПСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ) Истомина Н.Б., Лихачева О.В.	165
ВЛИЯНИЕ ФОРОФИТА НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ЭПИФИТНОМ ЛИШАЙНИКЕ <i>HYROGYMNA RHYSODES</i> В ЕЛЬНИКЕ НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ Катаева М.Н., Беляева А.И., Евдокимов А.С.	167
ОЦЕНКА СКОРОСТИ РОСТА ЭПИЛИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ И ПРОБЛЕМЫ ЛИХЕНОМЕТРИИ Курбатов А.А., Сонина А.В.	168
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ <i>HYROGYMNA RHYSODES</i> В РАЗНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ Мейсурова А.Ф., Нотов А.А., Пунгин А.В.	170
ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ В СПИСКЕ ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ Мучник Е.Э., Казакова М.В.	173
РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛИШАЙНИКОВ НА ГОРОДСКОЙ ЧАСТИ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ» Пчелкин А.В.	175
ЛИШАЙНИКИ МАЛОНАРУШЕННЫХ ЛЕСОВ ВЕРХОВИЙ РЕКИ НЮХЧА (ПИНЕЖСКИЙ РАЙОН, АРХАНГЕЛЬСКАЯ ОБЛАСТЬ) Тарасова В.Н.	176
ЛИШАЙНИКИ В СТРУКТУРЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА ТОРФЯНЫХ ПОЧВАХ ПЛОСКОБУГРИСТЫХ БОЛОТ ТАЕЖНОЙ ЗОНЫ (ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ, ХМАО-ЮГРА) Толпышева Т.Ю., Шишконокова Е.А.	179

Глава 7. Взаимоотношения грибов, бактерий и растений. Микориза

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАНТАРЕЛЛОВЫХ ГРИБОВ (ПОРЯДОК <i>CANTHARELLALES</i>) Бондарцева М.А., Змитрович И.В.	181
ПРОДУКЦИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ <i>RHIALOCERHALA FORTINII</i> И <i>ASPARAGUS OFFICINALIS</i> L. Доронькина Н.А., Сеницына Ю.В.	183
К ВОПРОСУ СОЗДАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗ И ВЕРМИКОМПОСТА: МИКОСИМБИОТРОФИЗМ СОИ ПОСЕВНОЙ (<i>GLICINE MAX</i>) СОРТА ПАМЯТЬ ПРИ ВНЕСЕНИИ ВЕРМИКОМПОСТА В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО ЭКСПЕРИМЕНТА	

Фалеев Д.Г., Дидоренко С.В., Нусупов А.А., Фалеев Е.Г., Акильбекова А.И., Абдикарим Г.М., Саткен Х.С., Богуспаев К.К.	184
ТРОФИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА БИОТЫ АГАРИКОИДНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ Калинина Л.Б.	186
РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПЛОДОВЫМИ ТЕЛАМИ МАКРОМИЦЕТОВ И МИКСОМИЦЕТОВ Лысак Л.В., Лыпыгин В.В., Сизов Л.Р., Гмошинский В.И.	188
АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКОТРОФНОСТИ <i>TRIFOLIUM PRATENSE</i> L. НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НАРУШЕННЫХ БИОТОПОВ Мазурек Б.Г., Жебрак И.С., Кожевин П.А.	189
ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКОРИЗООБРАЗОВАНИЯ СВЕТЛОХВОЙНЫХ Мухаметова Г.М., Зайцев Г.А.	191
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НЕКОТОРЫХ ЗАПОВЕДНИКОВ АРМЕНИИ Нанагюлян С.Г., Маркарян Л.В., Власенко В.А.	193
О ЗАНОСНОМ ХАРАКТЕРЕ НЕКОТОРЫХ СИМБИОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ В МИКОКОМПЛЕКСЕ КРЫМСКИХ ЯЙЛ (ГОРНЫЙ КРЫМ) Саркина И.С.	195
НОВЫЕ НАХОДКИ РЕДКИХ ВИДОВ ГРИБОВ, НУЖДАЮЩИХСЯ В ОХРАНЕ В ЛИПЕЦКОЙ ОБЛАСТИ Сарычева Л.А.	197
БАКТЕРИИ ИЗ МИКСОМИЦЕТОВ СТИМУЛИРУЮТ РОСТ КСИЛОТРОФНЫХ ГРИБОВ Широких А.А., Попыванов Д.В.	199
ОСОБЕННОСТИ СИМБИОЗА ОРХИДНЫХ С ГРИБАМ Сытников Д.М., Шейко Е.А.	201
ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ СОИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РИЗОБИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ И МИКОРИЗАЛЬНЫХ ГРИБОВ Умаров Б.Р.	202
СОЗДАНИЕ ОХАРАКТЕРИЗОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ С РАЗЛИЧНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О., Шишова М.Ф., Родионов А.В.	204
ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА «ГРИБОКОРЕНЬ» НА РОСТ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ Курамшина З.М., Юсупова Р.А.	206

Глава 8. Дереворазрушающие грибы

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ Антипов Д.И., Мелькумов Г.М.	208
ИНВАЗИВНАЯ МИКОБИОТА ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД В БЕЛАРУСИ Беломесяцева Д.Б., Звягинцев В.Б., Шабашова Т.Г.	209
РАСПРОСТРАНЕНИЕ МУЧНИСТОРОСЯНЫХ ГРИБОВ В НАСАЖДЕНИЯХ БУЛЬВАРНОГО КОЛЬЦА МОСКВЫ Белов Д.А.	211
СОВРЕМЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКОБИОТЕ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА <i>BETULACEAE</i> GRAY В ДОНЕЦКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С.	213
ДИПЛОДИОЗ ХВОЙНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ В НАСАЖДЕНИЯХ БЕЛАРУСИ Дишук Н.Г., Головченко Л.А.	215
АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>GERANIUM</i> Элоян И.М., Погосян А.В., Адамян Р.Г.	217
ВИТАЛЬНЫЕ ОБЛИГАТЫ АУТОМИКО- И МИКРОБИОТЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ СИСТЕМНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ Гойчук А.Ф., Кульбанская И.Н.	218
АФИЛЛОФРОИДНЫЕ ГРИБЫ НА <i>JUNIPERUS OBLONGA</i> НА ТЕРРИТОРИИ ПЛАТО ГУНИБ (ВНУТРИГОРНЫЙ ДАГЕСТАН) Иванушенко Ю.Ю., Волобуев С.В.	219

КСИЛОТРОФНЫЕ ГРИБЫ РЕСПУБЛИКИ АБХАЗИЯ АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДРЕВЕСИНОЙ ПИХТЫ (<i>ABIES NORDMANNIANA</i>) Хачева С.И.	222
АНАМОРФНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ — НА СОРТОВЫХ РОЗАХ В РОЗАРИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ Кориняк С.И., Миркина Е.В., Иванова А.Д., Соловьева В.К.	225
СТРУКТУРА И АКТИВНОСТЬ СООБЩЕСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ В РАЗЛАГАЮЩЕЙСЯ ДРЕВЕСИНЕ Максимович С.В., Иванова А.Е., Костина Н.В., Евдокимов И.В., Кураков А.В., Горленко М.В.	227
ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СУХОВЕРШИННОСТИ ЯСЕНЯ <i>HUMENOSCYPHUS FRAXINEUS</i> VARAL Et al. НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ Пантелеев С.В., Баранов О.Ю., Звягинцев В.Б., Ярук А.В.	229
АФИЛЛОФОРОВЫЕ ГРИБЫ ПРОИЗВОДНЫХ ЛЕСОВ РАЗНЫХ ТИПАХ ЛАНДШАФТА (РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ) Руоколайнен А.В.	230
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В МНОГОЛЕТНИХ ЗЕЛЕНЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ИЗ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ Серая Л.Г., Ларина Г.Е., Калембет И.Н., Полякова Н.Н.	232
ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ПОРАЖЕНИИ ПОБЕГОВ СОСНЫ КРЫМСКОЙ В НАСАЖДЕНИЯХ РЕСПУБЛИКИ КРЫМ Шишкина А.А., Шишкина А.А.	234
ПРОЯВЛЕНИЕ СОПРЯЖЕННОГО УВЯДАНИЯ ЛИСТВЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ (СУЛДР) В МОСКВЕ В 2019 ГОДУ Смирнова О.Г., Довгань Е.Д., Михина М.С., Смирнов А.Н.	236
ВЛИЯНИЕ ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ НА ОЦЕНКУ ДЕКОРАТИВНОСТИ ДРЕВОСТОЕВ Смирнова О.Г., Смирнов А.Н.	237
ВИДОВОЙ СОСТАВ ПАТОГЕНОВ ХРИЗАНТЕМЫ КОРЕЙСКОЙ В КОЛЛЕКЦИОННОМ ФОНДЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ Тимофеева В.А., Головченко Л.А., Цеханович С.В.	238
АНАЛИЗ СПИСКА МИКОБИОТЫ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ НА ПРЕДМЕТ ВЫЯВЛЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МАКРОМИЦЕТОВ Вайшла О.Б., Шабанова Н.Ю.	240
РОД <i>DAEDALEOPSIS SCHROET</i> НА УРАЛЕ Владыкина В.Д.	242
АГАРИКОМИЦЕТЫ НА ДРЕВЕСИНЕ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЧЕРНОЗЕМЬЯ РОССИИ Волобуев С.В., Большаков С.Ю.	242
ГРИБЫ НА ОТМЕРШИХ ФРАГМЕНТАХ <i>PHRAGMITES AUSTRALIS</i> В ПРЕСНОВОДНОЙ СРЕДЕ Воронин Л.В.	244
ЭНДОФИТНЫЕ ГРИБЫ, ВПЕРВЫЕ ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА Юсупов У.К., Шарипова З.О., Абдульмянова Л.И., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г.	246

Глава 6. Лишайники

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.06

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ СТАДИЙ ЦИАНОЛИШАЙНИКА *PELTIGERA PRAETEXTATA*

Андросова В.И., Солодянкин П.А.

Петрозаводский государственный университет

Изучение онтогенетического хода развития лишайников сравнительно молодая область лихенологии, которая получила активное развитие в связи с ростом популяционных исследований этих организмов. Цианолишайники — группа лишайников, в которых цианобактерии выступают или в качестве единственного фотосинтезирующего партнера (цианобионт, фикобионт), или дополнительного к основному фотобионту [1]. Они составляют около 10–15% всех известных лишайников и распространены в разных типах сообществ, в которых принимают участие в фиксации атмосферного азота от 1,5 до более, чем 16 кг·га⁻¹·год⁻¹ [2]. Кроме того, структурные и физиологические особенности обуславливают высокую чувствительность цианолишайников к изменениям условий местообитания и определяют их использование как индикаторных видов [1]. Существенный вклад в понимание причин уязвимости этого компонента экосистем на более глубоком, причинно-следственном уровне могут внести исследования хода онтогенеза, на основе которых возможно выявление структурных и физиологических особенностей талломов разных онтогенетических стадий.

Peltigera praetextata (Flörke ex Sommerf.) Zopf — листоватый цианолишайник, широко распространенный в бореальных сообществах. На сегодняшний день в литературе отсутствует полное описание онтогенетического развития этого вида, не известны морфометрические показатели талломов разных онтогенетических стадий.

Цель работы — выявление морфологических и структурных особенностей отдельных стадий онтогенеза листоватого цианолишайника *Peltigera praetextata*.

В основу работы легли материалы, собранные в 2019 году на территории государственного природного заповедника «Кивач» (Республика Карелия), на постоянных пробных площадях в лесных сообществах с давностью последнего нарушения 90–250 лет [3]. Образцы талломов были собраны со всех субстратов (живые деревья, валеж), при этом с помощью рамки 10×20 см отмечали их проективное покрытие. Образцы талломов изучались в лабораторных условиях при помощи бинокля Микромед МС2, при этом регистрировали следующие признаки талломов: длина, ширина, площадь, наличие и размеры ризин, жилок, филлидий и апотециев, число выемок и лопастей, форма, курчавость края, томентозность. Анатомические параметры отдельных стадий (общая толщина, толщина корового, альгального слоев, сердцевины, размеры клеток водорослей) изучались с

помощью микроскопа Axio Scope A1. Анализ выполнен на основе описания 270 талломов, произраставших на 30 субстратных единицах. Минимальный размер анализируемого таллома составил 0,03 см.

Онтогенез таллома лишайника *P. praetextata* включает развитие мицелия гриба из споры, процесс его лихенизации с сине-зеленой водорослью *Nostoc* sp. в зачаток слоевища, морфогенез слоевища (формирование жизненной формы и старение слоевища) и формирование структур полового и вегетативного размножения. В ходе исследования выделено 4 периода и 12 онтогенетических состояний талломов *P. praetextata*: латентный (*sp*), прегенеративный (прототаллюс (*pr*), протероталлюс (*prt*), ювенильный (*j*), имматурный (*im1*, *im2*, *im3*), виргинильный (*v1*, *v2*)), генеративный (*g*), постгенеративный (субсенильный (*ss*), сенильный (*s*)). Описание ранних стадий (от латентного до ювенильного) дано с учетом литературных данных, общих для лишайников [4]. Листоватое слоевище формируется при состоянии *im1*, на нем постепенно развиваются жилки, ризины (*im2*) и зачаточные лопасти с курчавым краем (*im3*), достигая внешнего вида зрелого таллома (*v1*). Затем (*v2*) на талломе, по его краям и трещинам формируются филлидии (0,01 см) — структуры вегетативного размножения, которые в зрелом состоянии соответствуют состоянию *im1*. Позднее образуются седлообразные апотеции (*g*) и с течением времени на талломе появляются некрозы (*ss*), площадь которых увеличивается (*s*), и постепенно происходит его отмирание. Интересно также отметить, что филлидии иногда могут развиваться в зрелый таллом прямо на «материнском» талломе. Кроме того, талломы могут переходить к генеративному этапу, минуя состояние *v2*, не формируя филлидий.

Линейные размеры и площадь талломов *P. praetextata*, относящихся к разным онтогенетическим состояниям, представлены в таблице 1. Согласно полученным результатам, в изученном последовательном морфологическом ряду выявлено увеличение линейных размеров и площади талломов.

В ходе исследования были изучены анатомические параметры талломов *P. praetextata*, относящихся к разным онтогенетическим состояниям (табл. 2).

Значения анатомических параметров талломов *P. praetextata* закономерно увеличиваются в изученном онтогенетическом ряду. Однако, согласно полученным результатам, толщина корового и альгального слоев изменяются менее значительно, чем сердцевина,

Таблица 1

Линейные размеры и площадь талломов разных онтогенетических состояний лишайника *Peltigera praetextata*

Онтогенетическое состояние	Длина таллома, см	Ширина таллома, см	Площадь таллома, см ²
<i>im1</i>	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,003 ± 0,00
<i>im2</i>	0,09 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,01 ± 0,00
<i>im3</i>	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,02 ± 0,00
<i>v1</i>	0,76 ± 0,16	0,53 ± 0,11	1,14 ± 0,52
<i>v2</i>	3,41 ± 0,25	2,36 ± 0,19	10,29 ± 1,61
<i>g</i>	7,76 ± 0,45	6,34 ± 0,45	61,41 ± 8,23
<i>ss</i>	6,20 ± 0,66	7,50 ± 1,69	48,10 ± 14,62
<i>s</i>	10,27 ± 0,50	9,00 ± 1,95	92,59 ± 20,75

Таблица 2

Анатомические параметры талломов разных онтогенетических стадий лишайника *Peltigera praetextata*

Онтогенетическое состояние	Общая толщина таллома, μm	Толщина корового слоя, μm	Толщина альгального слоя, μm	Размеры клеток водорослей, μm	Сердцевина, μm
<i>im1</i>	167,07 ± 5,87	45,13 ± 1,24	51,87 ± 2,02	8,72 ± 0,72	49,41 ± 2,74
<i>im2</i>	165,66 ± 6,53	38,61 ± 1,39	48,20 ± 1,51	10,64 ± 0,34	66,67 ± 3,15
<i>im3</i>	211,79 ± 6,02	43,09 ± 0,95	61,79 ± 2,76	10,54 ± 0,30	91,86 ± 3,30
<i>v1</i>	247,10 ± 6,36	46,58 ± 0,86	64,83 ± 1,30	12,69 ± 0,18	142,69 ± 5,86
<i>v2</i>	282,08 ± 5,14	57,54 ± 1,82	75,41 ± 2,10	12,93 ± 0,16	179,13 ± 5,14
<i>g</i>	329,71 ± 6,95	57,56 ± 1,41	70,08 ± 1,85	12,18 ± 0,21	199,04 ± 6,32
<i>ss</i>	252,87 ± 10,04	46,49 ± 1,11	21,99 ± 6,14	4,28 ± 1,10	198,89 ± 7,76
<i>s</i>	235,18 ± 7,75	46,46 ± 1,25	–	1,41 ± 0,78	188,60 ± 7,71

за счет которой и происходит увеличение общей толщины таллома. Между состояниями *im1* и *im3* наблюдается значительное варьирование общей толщины и толщины корового и альгального слоев. Вероятно, это связано с неравномерным распределением гиф гриба и фотобионта в талломе: участки обильного скопления, уплотнения, утолщения чередуются с более рыхлыми и тонкими. В талломах, принадлежащем состоянию *im2* наблюдается распределение, “разглаживание” слоя синне-зеленой водоросли, что сказывается на небольшом уменьшении толщины этого слоя. На следующих этапах формируется уже единый, непрерывный, равномерный альгальный слой. Однако, доля альгального слоя по мере развития таллома сохраняет относительное постоянство, варьируя от 20 до 30%. В талломах постгенеративного периода (*ss*, *s*) доля альгального слоя значительно уменьшается в сравнении с другими этапами, его непрерывность нарушается, и он сохраняется только небольшими участками со скоплениями водорослевых клеток. В сенильных (*s*) талломах регистрируются отдельные клетки фотобионта при отсутствии сформированного альгального слоя. Следует также отметить, что некрозы и признаки старения в исследуемой выборке были характерны для талломов постгене-

ративного периода и не встречались у талломов других онтогенетических состояний.

Таким образом, в ходе исследования были выявлены основные стадии онтогенеза цианолишайника *P. praetextata* и охарактеризованы их морфологические особенности. Направлением дальнейших исследований будет продолжение изучения морфогенеза, структурных и физиологических особенностей разных онтогенетических состояний талломов *P. praetextata*, а также влияние на них условий местообитания.

Список литературы

1. Antoine M.E. An ecophysiological approach to quantifying nitrogen fixation by *Lobaria oregana* // The Bryologist. — 2004. — № 107(1). — P. 82–87.
2. Rikkinen J. Cyanolichens // Biodiversity and Conservation. — 2015. — № 24(4). — P. 973–993.
3. Игнатенко Р.В. Экология лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. в растительных сообществах Карелии: дис. ... канд. биол. наук. Ботан. ин-т им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, 2018.
4. Суетина Ю.Г., Глотов Н.В. Онтогенез и морфогенез *Usnea florida* (L.) Weber ex g. // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 1. С. 32–40.

МОНИТОРИНГ РЕДКИХ ЭПИФИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ НА ООПТ
И В МАЛОНАРУШЕННЫХ ЛЕСАХ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИАристархова Е.А.¹, Мучник Е.Э.², Сулова Е.Г.¹¹Географический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова;²Институт лесоведения РАН, с. Успенское

Лишениобиота Московской области (МО) изучалась в течение более 200 лет с разной интенсивностью. Наиболее полные сведения о распространении лишайников в МО содержатся в трудах А.А. Еленкина [1], Н.С. Голубковой [2], Л.Г. Бязрова [3]. В результате ежегодного мониторинга, проводимого в последнее десятилетие авторами в составе экспедиций Природоохранного Фонда (ПФ) «Верховье» на имеющихся и проектируемых особо охраняемых природных территориях (ООПТ), где сохранились старовозрастные сырые и заболоченные леса и лесные болота, количество мест находок редких лишайников значительно возросло [4].

В течение последних двух лет после выхода третьего издания Красной книги МО области [5] на территории ряда городских округов (г.о.) на существующих, реорганизуемых ООПТ и территориях, перспективных для создания заказников и памятников природы, продолжался мониторинг редких для области видов лишайников.

Обследование для выявления редких лишайников и оценки их обилия проводилось маршрутным методом. Наиболее полно изучены леса и лесные болота ООПТ МО. Лишайники собирались с нижних доступных частей крон или стволов на высоте 2–5 м и с крон валежных деревьев. Камеральная обработка сборов проводилась с применением общепринятых лихенологических методов, идентифицированные образцы переданы в гербарий биологического факультета МГУ (MW). Часть образцов бриорий проверены и подтверждены на основании анализа вторичных метаболитов методом тонкослойной хроматографии в лаборатории лихенологии и бриологии Ботанического института имени В.Л. Комарова (БИН) РАН (г. Санкт-Петербург). Для характеристики распространения изучаемых видов эпифитных лишайников в программе MS Excel создана таблица и на ее основе ведется База данных.

Мониторинг редких эпифитных лишайников на территории МО показал, что наиболее редко встречающиеся в регионе виды бриорий — *B. vrangiana* и *B. nadvornikiana*, наиболее редкий вид рода *Usnea* — *U. lapponica*. Эти виды отмечены только в старовозрастных сырых и влажных еловых и елово-мелколиственных лесах, на окраинах переходных и верховых болот в западных и северо-западных районах области.

Для территории Дмитровского г.о. список ранее известных видов редких эпифитных лишайников пополнил вид *Bryoria nadvornikiana* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw., ранее известный в МО только из Госкомплеса (ГК) «Завидово» [6]. Лишайник найден К.Ю. Тепловым осенью 2018 г. на ветвях ели на опушке ЛЭП и елово-березового с осинной леса около д. Лупаново у границ недавно созданного крупного ООПТ «Долина реки Лутосня» и реорганизованного заказника «Долина реки Волгуша и Парамоновский овраг». Также вид собран в пределах государственного природного заказника (ГПЗ) «Звенигородская биостанция МГУ и карьер «Сима» летом 2017 г. [7].

В 4 округах МО — Лотошино, Рузский, Истра и Волоколамский при обследовании нескольких существующих и проектируемых заказников был найден *Bryoria vrangiana* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw. На самом севере г.о. Лотошино (окр. д. Немки и Савостино) он собран на границе переходного болота и сырого зеленомошного ельника, в г.о. Волоколамский (окр. д. Акулово — СНТ «Чередово») — на границе елово-березового леса и верхового болота, в г.о. Рузский (к северу от д. Козлово и к юго-западу от урочища Колшино) — в заболоченном сосняке кустарничково-сфагновом, а в г.о. Истра — у с. Сафонтьево в заболоченном лесу с елью, сосной, березой, ивами. Вид также повторно собран по окраине елового леса и Шараповского болота в г.о. Одинцово на границе ГПЗ «Звенигородская биостанция МГУ и карьер «Сима» и в пределах указанного ГПЗ. Все эти образцы отличаются от *B. fuscescens* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw. по габитусу, характеру ветвления и толщине веточек, а также составом вторичных метаболитов. Весьма вероятно, что некоторые сборы бриорий в сырых и заболоченных ельниках северо-запада и запада Подмосковья, ранее определенные как *B. implexa* (Hoffm.) Brodo et D. Hawksw. и *B. fuscescens*, также являются бриорией Вранга, в связи с чем требуется ревизия гербарных материалов.

В 2018–2019 гг. на территории обследуемых малонарушенных лесов и ООПТ области появились также новые находки *Imshaugia aleurites* (Ach.) Fricke, *Pleurosticta acetabulum* (Neck.) Elix. et Lumbsch, *Anaptychia ciliaris* (L.) Körb. и видов р. *Usnea*.

В г.о. Клин у с. Покровка (немного южнее заказника «Покровский») на границе березово-елового леса и переходного болота на ветвях ели и в г.о. Рузский к северу от д. Козлово в пределах проектируемого ООПТ на березово-сосновом верховом кустарничково-сфагновом болоте найдена *Usnea lapponica* L. В конце 90-х годов этот редкий вид уснеи был распространен несколько шире и указан для г.о. Серебряные Пруды, Бронницы, Истра и Одинцовский [5].

В малонарушенных лесах ООПТ г.о. Талдомский, Клин, Лотошино, Щелково в 2018–2019 гг. найден относительно часто встречающийся в МО, но гораздо более редкий, чем другие виды рода — *U. glabrescens* (Nyl. ex Vain) Vain.

Для Талдомского г.о. в 2018–2019 гг. список редких видов лишайников пополнился находкой *Imshaugia aleurites* (Ach.) Fricke в сфагновом сосняке рядом с Куниловским болотом к югу от д. Леоново (заказник «Журавлиная родина»).

В г.о. Солнечногорск недалеко от д. Болкашино на опушке елово-березового леса на территории, предлагаемой к охране, после долгого перерыва (MW: 1965, 1975) была найдена *Hypogymnia bitteri* (Lynge) Ahti.

В южной части области в 2018 г. в г.о. Серпухов (д. Ланьшино, в старом парке заброшенного пионерлагеря) собрана *Pleurosticta acetabulum* (Neck.) Elix. et

Lumbsch. На территории ООПТ «Карасевская лесная дача» в Коломенском г.о. на старом дубе и в г.о Луховицы к юго-востоку от д. Лисьи Норы в 2019 г. вид встречен на стволах старых лип в реорганизуемом заказнике. В северо-западной части области таллом небольших размеров отмечен на липе, растущей среди обширных залежных лугов к северу от д. Козлово (Рузский г.о.).

Среди видов р. *Ramalina* в период после выхода последнего издания Красной книги МО имеются только сборы *R. farinacea* (L.) Ach. из лесов разных г.о., где она отмечена как на стволах старых лип, так и осин, дубов, ветвях елей и ивы козьей. В настоящее время предполагается работа по ревизии собранных за несколько лет материалов и более старых сборов в гербарии MW, что связано с выделением из группы *R. pollinaria* самостоятельного вида — *R. europaea* Gasparyan, Sipman & Lücking sp. nov. [8]. Этот вид уже отмечен в Московском регионе и предложен к охране на территории г. Москвы [9].

Таким образом, в результате нашего исследования уточнены и пополнены списки редких видов лишайнобиоты, что важно при составлении Положений и Паспортов на проектируемые и реорганизуемые ООПТ.

Наиболее значимыми можно считать сборы *Bryoria vrangiana*, *B. nadvornikiana*, *Usnea lapponica*, *Hypogymnia bitteri*, *Imshaugia aleurites*, *acetabulum*. Необходимо переопределение сборов *B. implexa* с помощью биохимического анализа TLC и продолжение поисков наиболее редких видов лишайников в г.о. Талдомский, Дмитровский, Волоколамский, Сергиево-Посадский и Солнечногорск, где имеются вполне подходящие условия для развития эпифитной лишайнобиоты.

Авторы выражают искреннюю благодарность ПФ «Верховье» за предоставленные материалы, д.б.н. Т.Ю. Толпышевой (Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова) и к.б.н. И.Н. Урбанавичене (БИН РАН) за помощь в определении образцов сложных таксонов. Благодарим коллектив сотрудников Лаборатории лишайнологии и бриологии БИН РАН за предоставленную возможность работы в гербарии LE-L.

Список литературы

1. Еленкин А.А. Флора лишайников Средней России. Ч. 1. Юрьев: типография К. Маттисена, 1906. 184 с.
2. Голубкова Н.С. Флора лишайников Московской области: дисс.... канд. биол. наук. Л.: БИН АН СССР, 1962. 102 с.
3. Бязров Л.Г. Видовой состав лишайнобиоты Московской области. Версия 2. 2009, http://www.sevin.ru/laboratories/biazrov_msk.html
4. Толпышева Т.Ю., Сулова Е.Г., Румянцев В.Ю. Виды рода *Bryoria* особо охраняемых природных территорий Московской области // Труды карельского научного центра РАН изд-во Федеральное государственное бюджетное учреждение Карельский научный центр Российской академии наук (Петрозаводск), 2017. № 4 с. 72–80.
5. Красная книга Московской области (изд. 3-е дополн. и переработ.). Отв. ред. Варлыгина Т. И., Зубакин В. А., Никитский Н.Б., Свиридов А.В. М.О.: ПФ «Верховье», 2018. 810 с.:илл.
6. Нотов А.А., Нотов В.А., Фертиков В.И. О распространении некоторых редких и охраняемых видах лишайников в Московской части национального парка «Завидово» // Вестн. ТвГУ. Сер. «Биология и экология», 2018. № 1. С. 138–150.
7. Мучник Е.Э., Благовещенская Е.Ю. Материалы к изучению лишайнобиоты заказника «Звенигородская биостанция МГУ и карьер «Сима» (Московская область) // Вестник Тульского государственного университета. Межрегиональная научная конференция «Изучение и сохранение биоразнообразия Тульской области и сопредельных регионов Российской Федерации», посвященная 120-летию со дня рождения Геннадия Николаевича Лихачева. 20–22 ноября 2019 г. Тула: Изд-во ТулГУ, 2019. С. 208–216.
8. Gasparyan A., Sipman H.J.M., Lücking R. *Ramalina europaea* and *R. labiosorediata*, two new species of the *R. pollinaria* group (Ascomycota: Ramalinaceae), and new typifications for *Lichen pollinarius* and *L. squarrosus* // The Lichenologist. — 2017. — Vol. 49, N4. — P. 301–319.
9. Черепенина Д.А., Мучник Е.Э. Лишайнологические исследования в парках музеев-заповедников Московского региона: некоторые результаты и перспективы//Проблемы ботаники: история и современность. Материалы Международной научной конференции, посвященной 130-летию со дня рождения профессора Б.М. Козо-Полянского, 80-летию со дня рождения профессора К.Ф. Хмелева, IX Научного совещания «Флора Средней России», г. Воронеж, 3–7 февраля 2020 г. Воронеж: Цифровая полиграфия, 2020. — С. 377–381.

НОВЫЕ НАХОДКИ РЕДКИХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ В ТОРОПЕЦКОМ РАЙОНЕ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Бирюкова Е.В.¹, Мучник Е.Э.², Леднев С.А.³

¹ГБПОУ «Воробьевы горы», 11 «Э» кл., г. Москва;

²Институт лесоведения РАН, с. Успенское;

³Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, географический факультет, кафедра геохимии ландшафтов и географии почв

Торопецкий район является наиболее западной частью Тверской области, граничащей с Новгородской и Псковской областями. Территория района расположена на западном склоне Валдайской возвышенности, переходящей в Приловатскую низменность. Для местности характерны многочисленные моренные холмы, возникшие в результате Московского и Валдайского оледенений. В юго-западной части протекает самая крупная река района — Торопа; помимо нее, относительно крупными водными артериями являются реки Сережа и Кунья. Местность богата озерами и болотами. Климат района умеренно-континентальный. Для лета характерны температуры от +15 до +20 °С; для зимы — от -10 до -15 °С. Годовое количество осадков составляет более 750 мм [1, 2].

Большая часть территории района покрыта лесами (преимущественно хвойными) и болотами. Основными лесообразующими породами являются сосна, ель, ольха, дуб, береза. На территории района сохранились фрагменты реликтовых дубрав, а также уникальные коренные елово-широколиственные сообщества — участки крупного лесного массива «Оковский лес» [1].

К настоящему времени Тверская область является одной из наиболее изученных в России в плане разнообразия лишенофлоры: здесь выявлены 613 видов лишайников и близких к ним грибов [3]. При этом Торопецкий район исследован в несколько меньшей степени по сравнению с другими частями области, что позволяет предполагать обнаружение редких флористических находок.

Сбор материалов выполнен маршрутным методом с 31 июля по 11 августа 2018 г. в восточной части Торопецкого района в окрестностях биостанции «Чистый лес» (деревня Чистое, Пожинское сельское поселение), озера Стрежино, а также на восточном побережье озера Наговье. В различных биотопах, выявляемых в ходе маршрутов, производился сбор лишайников с разных субстратов в радиусе до 50 м от выбранной точки. Привязка точек сбора к географической системе координат осуществлялась при помощи GPS-навигатора Garmin eTrex 20.

В камеральных условиях было произведено определение видового состава лишайников с использованием стандартных методов характеристики анатомо-морфологического строения и качественных химических реакций. Уточнение результатов определения видов проведено в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН, для определения некоторых образцов (главным образом, стерильных) в Уральском Федеральном Университете им. Б.Н. Ельцина выполнен анализ вторичных метаболитов методом тонкослойной хроматографии.

В ходе работы было обнаружено 93 вида лишайников, из них 13 видов, согласно публикациям [4, 5], ха-

рактеризуются как редкие для данного региона. Ниже приводим их перечень с указанием местонахождения, субстратом произрастания, датой сбора и категорией редкости соответственно сводкам [4, 5]. Обозначения категории редкости соответствуют используемым в вышеупомянутых источниках: Un! (extremely unique) — вид известен по единственному сбору (не считая нашего); Un (unique) — очень редко (1–3 местонахождения, если в одном пункте, то по нескольким сборам из него); Rr (rare) — редко (4–10 местонахождений). При несопадении данных или отсутствии видов в одной из сводок после категории редкости указан год издания работы, по которой приведена категория.

- *Absconditella lignicola* Vězda et Pišút — Абскондителла древесинная. N 56°39'07,91» E 31°36'43,05». Береговой склон ЮЗ экспозиции оз. Стрежино в пределах 30 м от линии уреза воды, 0,65 км к СВ от дер. Стрежино; в редкостойном сосняке-брусничнике на древесном отпаде. 06.08.18. Un!
- *Biatora efflorescens* (Hedl.) Räsänen — Биатора расцветаящая. N 56°41'55,46», E 31°35'09,12». Верхняя часть склона холма СЗ экспозиции между оз. Чистое (40 м к В от береговой линии) и оз. Самин, 0,75 км к В от дер. Чистое; в елово-широколиственном лесу на стволе рябины. 05.08.18. Un (2016)
- *Cladonia norvegica* Tønsberg et Holien — Кладония норвежская. N 56°42'14,10», E 31°35'09,96». Долина ручья, вытекающего из оз. Чистое и впадающего в оз. Узван (50 м к Ю от устья). 1 км к В-СВ от дер. Чистое; в елово-широколиственном лесу на стволе поваленной ели. 02.08.18. Un! Вид является индикатором старовозрастных малонарушенных лесных сообществ на Северо-Западе России [6], сохраняющим свои индикаторные свойства в подзоне хвойно-широколиственных лесов Центральной России [7].
- *Lecania dimera* (Nyl.) Th. Fr. — Лекания сомнительная. N 56°49'17,40», E 31°37'45,48». Склон возвышенности ЮВ экспозиции у ЮВ побережья оз. Наговье, 40 м к З от старой грунтовой дороги к урочищу Зайцево, 130 м к С от переправы через р. Сережа у ее истока. 1 км на 3-ЮЗ от дер. Кузнецово, 1,5 км к В-СВ от дер. Остров, в березняке с подростом ели и широколиственных пород, на ветке клена. 11.08.18. Un
- *Lecania fuscella* (Schaer.) Körb. — Лекания буроватая. N 56°42'10,91», E 31°35'09,90». Выровненная поверхность между оз. Чистое и оз. Узван, 150 м к С от грунтовой дороги Чистое — урочище Капустино, 1 км к В от дер. Чистое, в порослевом осинник с примесью лещины, на древесном отпаде. 02.08.18. Rr (2011)
- *Melanelixia subaurifera* (Nyl.) O. Blanco et al. — Меланеликсия золотистоносная. N 56°42'10,91», E

- 31°35'09,90». Выровненная поверхность между оз. Чистое и оз. Узван, 150 м к С от грунтовой дороги Чистое — урочище Капустино, 1 км к В от дер. Чистое; в порослевом осиннике с примесью лещины, на древесном отпаде. 02.08.18. Rr (2011)
- *Melanohalea septentrionalis* (Lynge) O. Blanco et al. — Меланохалея северная. N 56°42'40,87», E 31°35'10,33». Слабохолмистая возвышенность в 80 м к Ю от берега оз. Ручейское, около 20 м к Ю от просеки ЛЭП Чистое-Некрашово, 1,5 км к СВ от дер. Чистое, 1,75 км к Ю от дер. Некрашово; в березово-еловом лесу на позднем этапе сукцессии, на древесном отпаде. 01.08.18. Rr (2011), Un (2016)
 - *Naetrocymbe punctiformis* (Pers.) R.C. Harris — Нетроцимбе точковидная. N 56°49'17,40», E 31°37'45,48». Склон возвышенности ЮВ экспозиции у ЮВ побережья оз. Наговье, 40 м к З от старой грунтовой дороги к урочищу Зайцево, 130 м к С от переправы через р. Сережа у ее истока. 1 км на З-ЮЗ от дер. Кузнецово, 1,5 км к В-СВ от дер. Остров, в березняке с подростом ели и широколиственных пород, на березе. 11.08.18. Un
 - *Physcia alnophila* (Vain.) Lohr et al. — Фисция ольхолюбивая. N 56°39'14,82», E 31°36'20,91». Территория урочища Заозерье, 100 м к С от береговой линии оз. Стрежино, 0,8 км к С от дер. Стрежино, в порослевом сосняке на рябине. 06.08.18. Un (2016)
 - *Pertusaria leioplaca* DC. — Пертузария гладкостоевищная. N 56°41'36,94», E 31°33'48,90». Слабо выраженный склон Ю экспозиции, около 50 м к ЮВ от старой лесной дороги из дер. Чистое в урочище Лаповщина, 0,7 км к Ю-ЮЗ от дер. Чистое; в елово-березовом лесу на коре клена. 09.08.18. Un!
 - *Rinodina efflorescens* Malme — Ринодина цветущая. N 56°49'09,92», E 31°37'44,23». Возвышенность в 100 м к Ю от истока р. Сережа (из оз. Наговье), 1 км на З-ЮЗ от дер. Кузнецово, 1,5 км к В от дер. Остров; в липняке на коре ольхи. 11.08.18. Un! (2011)
 - *Ropalospora viridis* (Tønsberg) Tønsberg — Ропалоспора зеленая. N 56°42'40,87», E 31°35'10,33». Слабохолмистая возвышенность в 80 м к Ю от берега оз. Ручейское, около 20 м к Ю от просеки ЛЭП Чистое-Некрашово, 1,5 км к СВ от дер. Чистое, 1,75 км к Ю от дер. Некрашово; в березово-еловом лесу на позднем этапе сукцессии, на древесном отпаде. 01.08.18. Un (2011), Un! (2016)
 - *Usnea glabrata* (Ach.) Vain. — Уснея оголяющаяся. N 56°49'09,92», E 31°37'44,23». Возвышенность в 100 м к Ю от истока р. Сережа (из оз. Наговье), 1 км на

З-ЮЗ от дер. Кузнецово, 1,5 км к В от дер. Остров; в липняке на древесном отпаде. 11.08.18. Rr

Благодарности. Авторы благодарят коллектив сотрудников биостанции «Чистый лес» и лично М.Н. Рубцову за помощь в организации работы; туристскую группу в составе Щепиловой О.Г., Ларюшиной Н.А., Кириллина С., Дюжева К., Таратушки Е., Фроликова Г. за помощь в сборе лишенологической коллекции; к.б.н. Л.В. Гагарину, к.б.н. Л.А. Конорева, к.б.н. С.В. Чеснокова, ст. н.с. Д.Е. Гимельбранта (Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН), Ю.В. Герасимову (Botanische Staatssammlung München) за консультации при определении образцов; к.б.н. А.Г. Паукова (Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина) за выполнение тонкослойной хроматографии ряда образцов.

Список литературы

1. Сорокин А.С., Тюсов А.В., Кириллова Т.М. и др. Охрана живой природы как условие эффективно-го использования ландшафтного потенциала (на примере Торопецкого района Тверской области). Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2006. 2: 148–165.
2. Сайт Торопца и Торопецкого района «Кузьма и Ко». Географическое положение Торопецкого района. URL: <http://ticshen.narod.ru/Geografia.html> (дата обращения 26.02.2020).
3. Notov A.A., Himelbrant D.E., Stepanchikova I.S. 2019. New records of lichens and lichenicolous fungi from the Tver Region. *Novitates Systematicae Plantarum Non Vascularium* 53(1): 157–166. DOI: <https://doi.org/10.31111/nsnr/2019.53.1.157>
4. Нотов А.А, Гимельбрант Д.Е., Урабанавичюс Г.П. Аннотированный список лишенофлоры Тверской области. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2011. 123 с.
5. Нотов А.А, Гимельбрант Д.Е., Степанчикова И.С., Волков В.П. Лишайники Центрально-Лесного государственного природного биосферного заповедника. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2016. 332с.
6. Гимельбрант Д.Е., Кузнецова Е.С. Лишайники. Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России. Т. 2. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов. Санкт-Петербург, 2009: 93–138.
7. Мучник Е.Э. Лишайники как индикаторы состояния лесных экосистем центра Европейской России. Лесотехнический журнал. 2015. 5(3): С. 65–76.

НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ РАЗНООБРАЗИЯ ЛИХЕНОБИОТЫ ОХРАНЯЕМЫХ ПАРКОВ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА

Черепенина Д.А.^{1,2,3}, Мучник Е.Э.¹

¹Институт Лесоведения РАН, Успенское, Московская область

²Главный ботанический сад им. Цицина РАН, Москва

³Российский университет дружбы народов, Москва

Парки музеев-заповедников (музеев-усадб) интересны не только с позиции историко-культурного наследия, но и с точки зрения территорий для сохранения биоразнообразия естественной зональной биоты, в том числе и лишайнобиоты, так как они могут быть приравнены по режиму охраны к особо охраняемым природным территориям [1].

Лишайники парков музеев-заповедников неоднократно становились объектами исследований в Центральной России [1–3]. Парки музеев-заповедников Московского региона (Москва и Московская область) до последнего времени были довольно слабо изучены с лихенологической точки зрения. Из 20 усадебных парков, располагающихся на территории 14 музеев-заповедников, имелись лишь фрагментарные сведения о лишайнобиоте трех: «Царицыно» [4], «Коломенское» и «Лефортово» [5, 6].

В 2016–2018 гг. нами изучена лишайнобиота в парках музеев-заповедников (МЗ) «Абрамцево» (Сергиево-Посадский район), А.С. Пушкина: усадьбы «Вяземы» и «Захарово» (Одинцовский городской округ) и музея-усадьбы (МУ) «Остафьево» — «Русский Парнас» (Новомосковский административный округ города Москвы) (данные частично опубликованы [7]). Обследованные парки располагаются в подзоне хвойно-широколиственных лесов Русской равнины в пределах умеренно-континентального климатического пояса. Парки регулярные, разбиты в XVIII веке. В насаждениях преобладают типичные для подзоны хвойно-ши-

роколиственных лесов: *Acer platanoides* L., *Betula* sp. L., *Picea abies* (L.) Н. Karst., *Pinus sylvestris* L., *Populus tremula* L., *Quercus robur* L., *Tilia cordata* Mill. Возраст некоторых деревьев превышает 150 и 200 лет.

Сбор и камеральная обработка материалов осуществлялись с использованием общепринятых лихенологических методик. 1096 идентифицированных образцов переданы в гербарий Главного Ботанического Сада им. Цицина РАН (МНА). Объем семейств принят согласно R. Lücking et al. [8]. Использована номенклатура постоянно обновляемого ресурса [9]. Для определения сходства лишайнобиот рассчитан коэффициент Серенсена (Csc) [10]. Коэффициенты специфичности обследованных парков (К) вычисляли по формуле: $K = (a/b) \cdot 100$; где *a* — количество видов, встреченных только в одном из обследованных парков; *b* — общее число видов, обнаруженных во всех обследованных парках. Для определения видового богатства лишайнобиот рассчитан индекс Менхиника (DMn), а для обобщенной оценки разнообразия — индекс Шеннона (H) [10].

В результате исследования выявлено 103 вида лишайников и близких к ним нелихенизированных грибов из 50 родов, включенных в 26 семейств (табл. 1).

Наибольшим сходством лишайнобиот характеризуются парки МЗ А.С. Пушкина и МУ «Остафьево» (табл. 2).

Индексы Менхиника и Шеннона показали, что видовое богатство и общее разнообразие в МЗ «Абрамцево» выше, чем в МЗ А.С. Пушкина и в МУ «Остафьево» (табл. 3).

Таблица 1 — Количественное распределение видов лишайников обследованных парков

Парк	Число видов лишайников и близких к ним нелихенизированных грибов	Число родов	Число семейств
МЗ «Абрамцево»	55	30	17
МЗ А.С. Пушкина	58	36	18
МУ «Остафьево»	69	42	23
Всего	103	50	26

Таблица 2 — Матрица сходства лишайнобиот обследованных парков

C _{sc} и c	МЗ «Абрамцево»	МЗ А.С. Пушкина	МУ «Остафьево»
МЗ «Абрамцево»	–	0,51	0,56
МЗ А.С. Пушкина	29	–	0,61
МУ «Остафьево»	35	39	–

Примечание: *c* — число общих видов в лишайнобиотах сравниваемых парков

Таблица 3 — Индексы Менхиника и Шеннона лишайнобиот обследованных парков

Парк	DMn	H
МЗ «Абрамцево»	4,57	1,60
МЗ А.С. Пушкина	2,96	1,41
МУ «Остафьево»	2,90	1,53

Таблица 4 — Охраняемые виды лишайников обследованных парков

Вид	Красная книга	Категория	Парк		
			«Абрамцево»	«Вяземы»	«Остафьево»
<i>Cladonia macilenta</i>	ККМ	2	–	–	+
<i>Evernia prunastri</i>	ККМ	3	–	–	+
<i>Parmelina tiliacea</i>	ККМО	2	–	+	+
<i>Ramalina farinacea</i>	ККМО	3	+	–	–
<i>Usnea dasyypoga</i>	ККМО	3	+	–	–
<i>Usnea hirta</i>	ККМО; ККМ	3; 1	–	–	+
<i>Usnea subfloridana</i>	ККМО	3	+	–	–

Таблица 5 — Коэффициенты специфичности лишайнобиот обследованных парков

Парки	a	b	K
МЗ «Абрамцево»	15	103	14,6
МЗ А.С. Пушкина	14		13,6
МУ «Остафьево»	19		18,4

Примечание: a — количество видов, встреченных только в одном из обследованных парков; b — общее число видов, обнаруженных во всех обследованных парках

Полученные коэффициенты сходства, с одной стороны, могут быть следствием высокого сходства породного состава насаждений парков МЗ А.С. Пушкина и МУ «Остафьево», с другой стороны — следствием расположения упомянутых парков в пределах урбанизированных территорий, испытывающих на себе большую антропогенную нагрузку по сравнению с парком МЗ «Абрамцево». Последнее предположение косвенно подтверждается вычисленными индексами видового богатства и общего разнообразия, наиболее высокие показатели которых характерны именно для парка МЗ «Абрамцево».

Наиболее обычными и часто встречающимися видами во всех обследованных парках являются *Candelariella efflorescens*, *Hypogymnia physodes*, *Lecania fuscella*, *Lecanora symmicta*, *Parmelia sulcata*, *Phaeophyscia orbicularis*, *Physcia adscendens*, *Ph. aipolia*, *Physconia enteroxantha*, *Xanthoria parietina*. По-видимому, эта группа видов составляет «ядро» парковой лишайнобиоты.

Выявлены редкие виды, занесенные в Красные книги города Москвы (ККМ) [11] и Московской области (ККМО) [12] (табл. 4).

Отмечены и другие редкие и интересные для парковых сообществ виды «лесной» экологии, например, *Alixoria varia*, *Arthonia punctiformis*, *Arthopyrenia analepta*, *Biatora helvola*, *Hypogymnia tubulosa*, *Chaenotheca chrysocephala*, *Ch. trichialis*, *Lecidea erythrophaea*, *Parmeliopsis ambigua*, *Rusnora sorophora* и др. Также обнаружены индикаторы старых и хорошо сохранившихся парковых сообществ: кроме упомянутой выше *Parmelina tiliacea*, такими видами считаются *Melanelixia subargentifera* («Остафьево») и *Physconia perisidiosa* («Абрамцево», «Остафьево») [13, 14].

Коэффициенты специфичности лишайнобиот обследованных парков размещены в таблице 5.

Полученные данные свидетельствуют об уникальности видового состава лишайнобиоты каждого из парков, и, в первую очередь, о необходимости сохранения этих парковых сообществ как совокупности микрониз для обитания лишайников «лесной» экологии, в том числе редких и краснокнижных ви-

дов. Отметим, что большинство уникальных видов, встреченных только в одном парковом сообществе, как раз являются представителями вышеперечисленных категорий.

Авторы приносят благодарность администрациям музеев-заповедников «Абрамцево», А.С. Пушкина и музея-усадьбы «Остафьево» — «Русский Парнас» за содействие в организации исследований, а также Г.П. Урбанавичюсу (Институт проблем промышленной экологии КНЦ РАН), И.Н. Урбанавичене, Л.А. Коноровой (Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН), А.Г. Паукову (Уральский Федеральный университет им. Б.Н. Ельцина), А.Г. Цурикову (Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины) М. Куква (Gdansk University) за помощь в определении и подтверждении некоторых сложных таксонов.

Список литературы

1. Мучник Е.Э. Роль музеев-заповедников Центральной России в сохранении разнообразия региональной лишайнобиоты. Музей-заповедник: Экология и культура. Материалы шестой Международной научно-практической конференции. Ростов н/Д: Книга, 2015: 160–164.
2. Гудовичева А.В. Материалы к лишайнофлоре музея-заповедника «Ясная Поляна». Биологическое разнообразие Тульского края на рубеже веков: сборник научных трудов. Тула, 2001; 1: 3–6.
3. Мучник Е.Э. Первые сведения об эпифитных лишайниках парка музея-заповедника «Спасское-Лутовиново» (Орловская область, Центральная Россия). Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. 2014; 6 (62): 71–74.
4. Бязров Л.Г. Лишайники Москвы: современная динамика. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. 146 с.
5. Пчелкин А.В. Распространение лишайников в Москве. М., 1998. 21 с.

6. Пчелкин А.В., Пчелкина Т.А. Лихенологические исследования в музее-заповеднике «Коломенское». Современная Микология в России. Материалы III Международного микологического форума. М.: Национальная академия микологии, 2015; 4: 345–346.
7. Черепенина Д.А., Мучник Е.Э. Лихенологические исследования в парках музеев-заповедников Московского региона: некоторые результаты и перспективы. Проблемы ботаники: история и современность. Воронеж: Цифровая полиграфия, 2020: 377–381.
8. Lücking R., Hodkinson B.P., Leavitt, S.D. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota. Approaching one thousand genera. The Bryologist. 2016; 119: 361–416.
9. Nordin A., Moberg R., Tønsberg T. et al. Santesson's Checklist of Fennoscandian Lichen-forming and Lichenicolous Fungi. 2011. Version 29, April 2011. <http://130.238.83.220/santesson/home.php> (19.02.2020).
10. Леонтьев Д.В. Флористический анализ в микологии. Харьков, 2008. 110 с.
11. Красная Книга города Москвы. Под ред. Самойлова Б.Л., Морозовой Г.В. 2-е изд. М., 2011. 928 с.
12. Красная книга Московской области. Отв. ред. Т.И. Варлыгина, В.А. Зубакин, Н.Б. Никитский, А.В. Свиридов. Изд. 3-е, перераб. и доп. Московская обл.: Верховье, 2018. 810 с.
13. Гимельбрант Д.Е., Кузнецова Е.С. Лишайники. Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов. СПб, 2009; 2: 93–138.
14. Мучник, Е.Э. Лишайники как индикаторы состояния лесных экосистем центра европейской России. Лесотехнический журнал. 2015; 3 (19): 65–76.

ОХРАНЯЕМЫЕ ВИДЫ ЛИШАЙНИКОВ НА САЛАИРСКОМ КРЯЖЕ (АЛТАЙСКИЙ КРАЙ)

Давыдов Е.А.¹, Яковченко Л.С.²

¹Алтайский государственный университет, Государственный заповедник «Тигирекский», Барнаул;

²ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток

Территория Салаирского кряжа известна как один из рефугиумов третичной теплумеренной флоры в Сибири и характеризуется высоким разнообразием природных комплексов, как экологически непрерывных, так и заметно преобразованных деятельностью человека. Из коренной растительности здесь господствует черневая тайга, встречаются биологически ценные кедровые и еловые леса и леса с участием липы сибирской. Все эти сообщества включают большое количество редких видов и имеют высокую природоохранную ценность [1, 2]. Лишайники Салаира в пределах Новосибирской и Кемеровской областей были изучены Н. В. Седельниковой [3], которая приводит 673 вида, среди которых множество редких в Сибири, реликтовых, и других уязвимых и требующих охраны видов, в том числе внесенных в Красную книгу РФ — *Lobaria pulmonaria* и *Tuckerniaria laureri*. В то же время, Присалаирский ботанико-географический район (Салаир и Предсалаирье по ботанико-географическому районированию М. М. Силантьевой) [3] — самый слабо изученный с точки зрения лишайнофлоры регион Алтайского края. До недавнего времени для этой территории было известно только 5 видов лишайников [5–9]. В 2017 году список пополнился до 98 видов [10, 11], что далеко не исчерпывает видового разнообразия этого богатого в природном отношении и своеобразного региона.

Наиболее ценными сообществами с точки зрения биоразнообразия лишайников и обитания охраняемых видов на Салаирском кряже являются черневая тайга, кедровые и еловые леса, леса с участием липы сибирской. Черневая тайга представляет главнейший коренной тип лесной растительности Салаира, в прошлом покрывавший большую его часть. Биоразнообразие лишайников в черневой тайге, по сравнению с бореальной темнохвойной тайгой значительно увеличивается за счет не-

морального комплекса видов [12–13]. Кедровые леса с доминированием *Pinus sibirica* занимают небольшую территорию в центральной части Салаирского кряжа. Они расположены на крутых склонах речных долин на маломощных щебнистых бурых лесных почвах. Кедр здесь достигает высоты 30–32 м и 100–120 см в диаметре. Еловые леса (*Picea obovata*), также как и кедровые, произрастают на крутых склонах по долинам рек, особенно в северо-западной части территории. Ельники — одна из редких формаций в регионе; в Алтайском крае еловые леса находятся на границе своего распространения и занимают ограниченную площадь [14]. С елью связаны некоторые редкие виды лишайников из родов *Viatorella* и *Lecanora* [15]. Леса с липой сибирской отражают историю формирования растительности Сибири с плиоцена; служат местообитанием третичных неморальных реликтов, видовая насыщенность которых здесь самая высокая среди всех сообществ Сибири, а также местообитанием редких, исчезающих, эндемичных видов [1, 2].

В третье издание Красной книги Алтайского края вошли 23 вида лишайников [16]. Большинство охраняемых видов обитают в горных лесах Алтая и Салаира в восточной части края. С территории Присалаирского района Алтайского края до настоящей работы указывалось два вида — *Lobaria pulmonaria* и *Ramalina sibirica*.

В 2019 году авторами начато планомерное обследование Салаирского кряжа в пределах Алтайского края для изучения эколого-ценотического распределения редких видов лишайников.

Полевые исследования были проведены маршрутно-рекогносцировочным методом и методом пробных площадей. В различных по составу и проективному покрытию лесных сообществах заложены серии пробных площадей размером 20 на 20 м, которые описаны геоботанически. Главными объектами были леса с участием ели.

Обследовано четыре пробных площади Присалаирского района в Ельцовском, Тогульском и Заринском районах. Для охраняемых видов в каждом локалитете проведена оценка состояния популяций, включающая оценку размеров популяций (плотность заселения потенциальных форофитов, площадь проективного покрытия на стволах) и репродуктивного потенциала популяций (определение максимальной репродуктивной стадии, которой достигают талломы). В результате работы список видов лишайников Присалаирского района Алтайского края дополнен 38 видами. Изучено распределение лишайников в лесах с участием ели.

Всего в Присалаирском районе обнаружено семь видов охраняемых в Алтайском крае лишайников, для них указан спектр заселяемых местообитаний и видов деревьев-форофитов. Охраняемые виды *Graphis scripta*, *Nephroma bellum*, *Ramalina roesleri*, *R. vogulica* и *Usnea longissima* обнаружены на Салаире в пределах Алтайского края впервые. Изучена численность и оценена плотность популяций редких и охраняемых видов в растительных сообществах с участием ели.

Охраняемые виды лишайников встретились на семи породах деревьев. На всех породах, кроме черемухи обитает самый активный, среди изученных, вид — *Ramalina roesleri*. Наиболее часто вид встречается на сухих ветвях ели и пихты. *Ramalina sinensis* чаще всего заселяет стволы осины и пихты. Единственный вид, обнаруженный на черемухе, — *Graphis scripta*.

Полученные результаты будут использованы для совершенствования территориальной охраны природы и мониторинга состояния природной среды и лягут в основу работ по мониторингу изменений численности и плотности популяций, как научной основы ведения Красной книги и оценки эффективности мер охраны редких и уязвимых видов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Алтайского края в рамках научного проекта № 19-44-220003.

Список литературы

1. Лашинский Н.Н. (ред.) Флора Салаирского края. — Центральный сибирский ботанический сад СО РАН. — Новосибирск : Академическое изд-во "Гео", 2007. — 252 с.
2. Положий А. В., Крапивкина Э. Д. Реликты третичных широколиственных лесов во флоре Сибири. Томск: Изд-во ТГУ, 1985. 158 с.
3. Силантьева М. М. Конспект флоры Алтайского края. Барнаул, 2006. 392 с.
4. Седельникова Н.В. Лишайники. В кн.: Лашинский Н.Н., Сафронова Т.А., Перова Н.В., Горбунова И.А., Седельникова Н.В., Писаренко О.Ю., Лашинская Н.В. Флора Салаирского края. 2007. 252 с.
5. Давыдов Е. А. Лишайник из Красных книг СССР и РСФСР *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. (Lobariaceae, Lichenes) в Алтайском крае // Флора и растительность Алтая. Барнаул, 1999. Т. 4 (1). С. 18–23.
6. Давыдов Е. А. Дополнения к видовому составу лишайников Алтайской горной страны. I. // Turczaninowia, 2004. Т. 7. №4. — С. 47–59.
7. Стась Е. Ю. Находка *Ramalina sinensis* (Ramalinaceae, Lichenes) в Алтайском крае // Turczaninowia, 1999, т. 2, вып. 1. С. 43–44.
8. Vondrák, J., Frolov, I., Davydov, E. A., Urbanavichene, I., Chesnokov, S., Zhdanov, S., Muchnik, E., Konoreva, L., Himelbrant, D. & Tchabanenko, S. The extensive geographical range of several species of Teloschistaceae: Evidence from Russia. Lichenologist, 2016. Vol. 48: 171–189. [http://dx. doi.org/10.1017/S0024282916000116](http://dx.doi.org/10.1017/S0024282916000116)
9. Konoreva L.A., Chesnokov S.V., Davydov E.A. Stictis and Schizoxylon (Stictidaceae, Ostropales) in Russia // Herzogia, 2016. Vol. 29 (2): 706–711. <http://dx. doi.org/10.13158/hea. 29.2.2016.706>
10. Davydov E.A., Konoreva L.A. New data on lichens from Salair province in Altaysky krai (Siberia, Russia) // Turczaninowia, 2017. Vol. 20(4): 185–197.
11. [s://doi.org/10.14258/turczaninowia. 20.4.17](https://doi.org/10.14258/turczaninowia. 20.4.17)
12. Vondrák J., Frolov I., Davydov E. A., Yakovchenko L., Malíček J., Svoboda S., Kubásek J. 2019. The lichen family Teloschistaceae in the Altai-Sayan region (Central Asia) Phytotaxa 396(1): 1–66. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.396.1.1>
13. Седельникова Н. В., Лашинский Н. Н., Лузанов В. Г. Эпифитные лишайники черневых лесов Салаира (Алтае-Саянская горная система) // Ботан. журн., 1989. Т. 74. № 11. С. 1572–1583.
14. Давыдов Е.А. Аннотированный список лишайников западной части Алтая (Россия) // Нов. сист. низш. раст. Т. 35. 2001.– С. 140–161.
15. Силантьева М.М., Елесова Н.В., Овчарова Н.В., Косачев П.А., Казановский С.Г. Уникальные еловые леса Алтайского края. — Acta Biologica sibirica. 2017, Т. 3 (2). С. 6–12.
16. Davydov E.A. Printzen Ch. Rare and noteworthy boreal lichens from the Altai Mountains (South Siberia, Russia) // The Bryologist, 2012, 115(1): 61–73. <https://doi.org/10.1639/0007-2745.115.1.61>
17. Давыдов Е. А. Лишайники. В кн.: Шмаков А. И. Силантьева М. М. (ред.) Красная книга Алтайского края. Том 1. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов — Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2016. — С. 209–233.

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЧЕК-ЛИСТ ЛИШАЙНИКОВ САХАЛИНА И КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ

Давыдов Е.А.¹, Яковченко Л.С.², Галанина И.А.², Ежкин А.К.³, Конорева Л.А.^{4,5,6},Чесноков С.В.^{5,6}, Пауков А.Г.⁷, Фролов И. В.⁸, Омура Й.⁹¹Алтайский государственный университет, Барнаул; ²ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток;³Институт морской геологии и геофизики ДВО РАН, г. Южно-Сахалинск; ⁴Полярно-Альпийский ботанический сад-институт КНЦ РАН, Кировск; ⁵Ботанический сад-институт ДВО РАН, Владивосток;⁶Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург; ⁷Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург; ⁸Ботанический сад УрО РАН, Екатеринбург; ⁹Национальный Музей природы и науки, г. Цукуба, Япония

Благодаря удобству использования обновляемые чек-листы различных территорий, размещенные в Интернете, занимают прочное место в мировой научной инфраструктуре. При условии поддержания данных в актуальном состоянии, это наиболее удобные инструменты для получения информации о видовом составе территории, распространении и синонимике видов. Небольшой обзор таких списков для лишайников в мире и России сделал А.В. Мелехин с соавторами [1, 2].

Е. А. Давыдов с соавторами разработали базу данных [3, 4] и соответствующую ей оболочку для ввода, хранения, систематизации и поиска информации о видовом составе лишайников и лишенофильных грибов произвольно взятого региона, а также библиографических ссылок на публикации в которых эта информация содержится.

Система апробирована для составления первого чек-листа лишайников Алтайского края [5] и используется для его поддержания в актуальном состоянии на сайте Алтайского государственного университета (<http://old.ssbg.asu.ru/lichens/docs/>).

В настоящее время подходит к завершению работа над чек-листами Сахалина и Курильских островов. В этой работе использовано 106 литературных источников, 66 из них опубликовано на иностранных языках.

Первые сведения о лишайниках Сахалинской области опубликованы в XIX веке [6]. До Великой Отечественной войны в регионе работали японские исследователи [7, 8]. Первое обобщение литературных данных и собственных исследований на территории Сахалина и Курильских островов сделаны С. И. Чабаненко [9] в рамках ее работы над конспектом флоры лишайников юга российского Дальнего Востока. В этой работе для Сахалинской области приводится 455 видов лишайников и родственных им грибов. Позже для региона указано значительное количество новых видов.

Всего на настоящий момент для Сахалина и Курильских островов указано 768 видов, в том числе 744 — лишайников, 10 лишенофильных и 15 сапротрофных грибов. Лучше всего изучены о. Сахалин (603 вида) и о. Кунашир (373 видов), есть также данные по островам Итуруп (95 видов), Шикотан (94 вида), Парамушир (41 вида), Симушир (13 видов), Шумшу (9 видов), Атласова (5 видов).

Список лишайников может выводиться в трех формах. Простой: список оформлен в виде таблицы с информацией о первом указании вида для территории, его распространении по ботанико-географическим районам. Список с указанием всех источников включает все литературные ссылки с указанием вида в каждом районе, а конспект флоры, кроме того — синонимы под которым вид приводился в соответствующем источнике.

Поиск указания вида в литературном источнике облегчен тем, что литературная ссылка содержит страницу, на которой впервые упомянут вид, а литературные источники, находящиеся в открытом доступе, снабжены гиперссылками для перехода. В конце списков отдельно даны исключенные таксоны также с указанием на источник и страницу в нем.

В системе реализованы фильтры, позволяющие вывести в тех же трех формах не все записи, а только те, что относятся к определенной биологической группе (лишайники, лишенофильные грибы, близкие к лишайникам сапротрофные грибы) и/или одному или нескольким районам в пределах региона.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и ЯОПН в рамках научного проекта № 19-54-50010

Список литературы

1. Мелехин А.В. Анализ веб-ориентированного чек-листа лишайников Мурманской области // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). Т. 3: Споровые растения. Микология. Структурная ботаника. Физиология и биохимия растений. Эмбриология растений. — Махачкала: АЛЕФ, 2018. С. 48–50.
2. Мелехин А.В., Давыдов Д.А., Константинова Н.А., Боровичев Е.А. Информационная система для изучения биоразнообразия — CRIS и основные векторы ее развития // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). Т. 3: Споровые растения. Микология. Структурная ботаника. Физиология и биохимия растений. Эмбриология растений. — Махачкала: АЛЕФ, 2018. С. 46–48.
3. Давыдов Е.А., Мотин А.С., Ваганов А.В. База данных «Лишайники Алтайского края». Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014620356 от 27.02.2014.
4. Давыдов Е.А., Мотин А.С., Ваганов А.В. Лишайники и лишенофильные грибы Сахалина и Курильских островов. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2019621169 от 02.07.2019.
5. Davydov E.A. The first checklist of lichens, lichenicolous, and allied fungi of Altai krai (Siberia, Russia). 67 p. Mycotaxon. 2014. Vol. 129(2). P. 1–67. DOI: 10.5248/127.231
6. Wainio E. 1887. Monographia Cladoniarum universalis. Pars I, II et III/ — Acta Societatis pro Fauna et Flora Fennica, vol. IV, 1887, p. 1–509 (pars I); vol. X, 1984,

- p. 1–499 (pars II); vol. XIV, 1897–1898, p. 1–268 (pars III).
7. Satô M. 1936. Notes on the lichen flora of Minami—Karahuto, or the Japanese Saghalien. Bull. Biogeogr. Soc. Japan 6(11): 97–121.
 8. Satô, M 1936. Notes on the lichen flora of Tisima or the Kuriles // Botanical Magazine [Tokyo] 50: 610–617.
 9. Чабаненко С. И. Конспект флоры лишайников юга российского Дальнего Востока. 2002. — Владивосток: Дальнаука, 2002. 232 с.

ИЗУЧЕНИЕ ЛИХЕНОФЛОРЫ ТИГИРЕКСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Давыдов Е.А.¹, Яковченко Л.С.²

¹Алтайский государственный университет, Государственный заповедник «Тигирекский», Барнаул;

²ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток

Тигирекский заповедник занимает уникальное географическое положение в переходной зоне от обширных степей юга Западной Сибири и Казахстана к горным системам Алтая и Саян. Территория заповедника лежит на периферии западной части Алтайской горной страны в левобережье бассейна Верхнего Чарыша; основной ее массив занимает западную часть Тигирекского хребта. В ландшафтной структуре заповедника доминируют лесные низкогорья и среднегорья, в осевой части Тигирекского хребта — тундровые и луговые альпинотипные ландшафты [1–4].

Заповедник играет важнейшую роль в сохранении биологического разнообразия Западного Алтая и Алтайского края в целом. В заповеднике охраняются уникальные экосистемы, имеющие эталонное значение. Среди них: 1) черневая тайга — реликтовое сообщество, включает ключевые местообитания для редких видов, имеет стабилизирующее значение; 2) сообщества сибирки алтайской — *Sibiraea altaiensis*, самая большая популяция субэндемичного для Алтая ценозообразующего кустарника, уникальное сообщество, которое имеет эталонное значение [5]; 3) осоково-ирисово-стеллеропсисовые луговые степи — редкое сообщество, ключевое местообитание для редких и эндемичных видов [5].

Благодаря богатству редких и уязвимых растительных сообществ и видов растений, Тигирекский и Ханхаринский участки заповедника, а также часть охранной зоны между ними, включены в глобальную систему ключевых ботанических территорий [6]. Помимо сообществ с сибиркой алтайской и стеллеропсисом алтайским, здесь представлены хорошо сохранившиеся фрагменты злаково-разнотравных каменистых степей, кустарниковых степей и сообществ мезофильных кустарников низкогорий Западного Алтая.

В Тигирекском заповеднике сего здесь зафиксировано нахождение 115 охраняемых в Алтайском крае видов, в том числе 13 видов лишайников; для двух видов лишайников — *Ramalina vogulica* и *Usnea longissima*, — роль заповедника в охране оценена как определяющая (площадь или численность более 50% от общей по краю) [7].

В первой обобщающей публикации о лишайниках Тигирекского заповедника было приведено 255 видов [8]. Впоследствии при изучении материалов, собранных на территории заповедника, этот список был дополнен [9]. В «Биоте Тигирекского заповедника» [10] сделан обзор

литературных данных о заповеднике и представлен аннотированный список, включающий 337 таксонов лишайников, а также шесть видов лихенофильных грибов и один сапрофитный лишайникоподобный микромицет. Сведения о лишайниках заповедника приводятся в недавно опубликованных статьях с более широкой тематикой [11, 12], а также дополнены результатами обработки полевых сборов последних лет.

Всего на настоящий момент для Тигирекского заповедника известно 392 вида лишайников и близких к ним грибов. Все еще недостаточно изучены эпилитные виды карбонатных местообитаний и высокогорные эпилиты. Всего для Северо-Западного Алтая известно 549 видов, а для всего Алтайского края 630 видов [13].

Список литературы

1. Давыдов Е. А., Бочкарева Е. Н., Черных Д. В. Краткая характеристика природных условий Тигирекского заповедника // Труды Тигирекского заповедника, 2011. — Вып. 4. — С. 7–19.
2. Черных Д. В., Золотов Д. В. Ландшафтная структура Ханхаринского, Тигирекского участков и охранной зоны государственного природного заповедника «Тигирекский» // Известия АО РГО, 2015. — № 2 (37). — С. 16–28.
3. Черных Д. В., Золотов Д. В., Бирюков Р. Ю., Першин Д. К. Ландшафтная структура северной части Белорецкого участка Тигирекского заповедника // Труды Тигирекского заповедника. — 2018. — Вып. 10. — С. 29–39.
4. Черных Д. В., Золотов Д. В., Бирюков Р. Ю., Першин Д. К. Ландшафтная структура южной части Белорецкого участка Тигирекского заповедника // Труды Тигирекского заповедника. — 2019. — Вып. 11. — С. 8–15.
5. Зеленая книга Сибири: редкие и нуждающиеся в охране растительные сообщества. / Под ред. И. Ю. Коропачинского. — Новосибирск: Наука, 1996. — 397 с.
6. Артемов И. А., Корольюк А. Ю., Лашинский Н. Н. и др. Ключевые ботанические территории Алтае-Саянского экорегиона: опыт выделения. — Новосибирск: Академическое из-во «Гео», 2009. — 272 с.
7. Давыдов Е. А., Гармс О. Я., Кузменкин Д. В. и др. Роль Тигирекского заповедника в сохранении видов Красной книги Алтайского края // Труды Тигирекского заповедника, 2018. Вып. 10. С. 5–28.

8. Давыдов Е. А. Материалы по видовому составу лишайников заповедника «Тигирекский» // Горные экосистемы Южной Сибири: изучение, охрана и рациональное природопользование. Труды Тигирекского заповедника. Вып. 1, 2005. С. 16–21.
9. Давыдов Е. А. Материалы по видовому составу лишайников заповедника «Тигирекский». II. // Горные экосистемы Южной Сибири: изучение, охрана и рациональное природопользование. Тр. Тигирекского заповедника. Вып. 3, 2010. С. 12–14.
10. Давыдов Е. А. Лишайники Тигирекского заповедника (аннотированный список видов) // Труды Тигирекского заповедника, 2011. Вып. 4. С. 69–85.
11. Konoreva L.A., Chesnokov S.V., Davydov E.A. 2016. Stictis and Schizoxylon (Stictidaceae, Ostropales) in Russia // *Herzogia* 29 (2): 706–711. [http://dx. doi.org/10.13158/hea.29.2.2016.706](http://dx.doi.org/10.13158/hea.29.2.2016.706)
12. Vondrák J., Frolov I., Davydov E. A., Yakovchenko L., Malíček J., Svoboda S., Kubásek J. 2019. The lichen family Teloschistaceae in the Altai-Sayan region (Central Asia) // *Phytotaxa* 396(1): 1–66.
13. Davydov E.A. The first checklist of lichens, lichenicolous, and allied fungi of Altaysky krai (Siberia, Russia) // *Mycotaxon*, 2014. Vol. 127. 67 p. [http://dx. doi.org/10.5248/127.231](http://dx.doi.org/10.5248/127.231) с дополнениями [http://ssbg. asu.ru/lichens/docs](http://ssbg.asu.ru/lichens/docs) [последнее обращение 29–02–2020].

СОСТОЯНИЕ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ ЦИАНОЛИШАЙНИКА *LOBARIA PULMONARIA* (L.) HOFFM. НА СЕВЕРНОМ КРАЮ АРЕАЛА (РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ)

Игнатенко Р.В.^{1,2}, Тарасова В.Н.²

¹«Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск

²Петрозаводский государственный университет

Эпифитный цианолишайник лобария легочная (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) широко распространен в бореальных, умеренных, горных и океанических районах северного полушария и холодных частях тропиков (Yoshimura, 1998). Считается, что вид имеет сплошной тип ареала, однако в настоящее время в различных регионах мира *L. pulmonaria* встречается с неодинаковой частотой. В последнее столетие в Европе отмечается стремительное сокращение популяций данного вида. Особенно резкое уменьшение численности *L. pulmonaria* зарегистрировано в густонаселенных и промышленных районах, благодаря усилению практики управления лесами и загрязнению атмосферного воздуха (Rose, 1988). В связи с этим в большинстве стран северной и центральной Европы вид включен в списки охраняемых видов (Jüriado, Liira, 2010).

В европейской части России вид широко представлен на юге Республики Карелия (Кравченко, Фадеева, 2008), в северной части Архангельской области (Баталов и др., 2005) и в Республике Коми (Пыстина, Семенова, 2009). В лесных фитоценозах севера России (Мурманская область, Ненецкий автономный округ) *L. pulmonaria* встречается редко.

Исследования выполнены в 2014–2016 гг. в подзоне северной тайги на территории Республики Карелия (заповедник «Костомукшский», национальный парк «Паанаярви») в двух типах лесных сообществ: 1) смешанных елово-березовых лесах злаково-черничных (давность нарушения 180–200 лет) и 2) ельниках черничных зеленомошных субклимаксовых (210–270 лет).

Сбор данных выполнен на 8 постоянных пробных площадях (ПП) размером 100×100 м (1 га), которые были заложены с учетом требований, принятых в геоботанике. На каждой ПП выполняли геоботанические описания, включающие в себя определение характеристик лесных сообществ (давность нарушения, доля участия различных видов деревьев в древостое,

относительная сумма площадей поперечных сечений стволов древостоя, сомкнутость крон, характеристики напочвенного покрова) и отдельных деревьев (возраст, высота, диаметр ствола, площадь субстрата от 0 до 2 м над поверхностью почвы, параметры кроны) (Андреева и др., 2002). Для оценки давности нарушения в сообществах использовался метод изучения популяционной структуры видов древесного яруса (прежде всего, *Picea* spp.) (Ставрова и др., 2016).

Изучение показателей талломов лишайника *L. pulmonaria* выполняли методом сплошного учета на всех субстратах на высоте 0–2 м над поверхностью почвы. В месте произрастания вида отмечали характеристики микроусловий: экспозиция ствола, высота над поверхностью почвы, угол наклона поверхности ствола. Для каждого таллома *L. pulmonaria* при помощи рамки 25×25 см отмечали общую площадь и площадь некрозов (см²), а также принадлежность к онтогенетическому состоянию (Михайлова, 2005; Игнатенко и др., 2020). Исходя из спектра талломов разных онтогенетических состояний, были выделены следующие типы субценопопуляций: колонизирующая, растущая, стабильная, ложнорастущая, регрессивная. К одной субценопопуляции относится совокупность всех талломов, произрастающих на одном дереве.

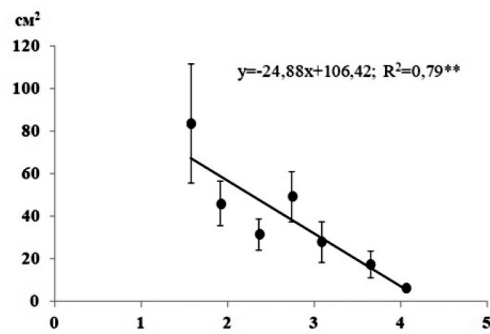
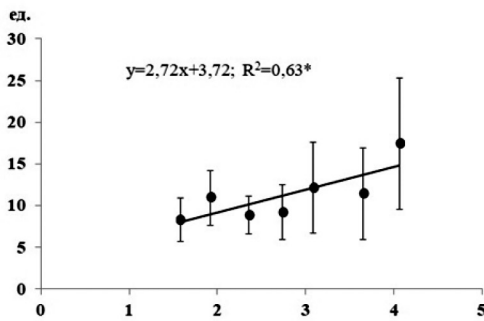
Анализ выполнен на основе описания 898 талломов на 120 субстратных единицах.

В результате проведенных исследований было установлено, что в смешанных елово-березовых лесах число талломов варьирует от 63 до 232 шт./га, составляя, в среднем, 125 шт./га, тогда как в ельниках число талломов изменяется с 73 до 123 шт./га и в среднем составляет 91 шт./га. Вероятно, низкое число талломов в еловых лесах связано с уменьшением числа потенциального субстрата для *L. pulmonaria*. Так, доля участия лиственных видов деревьев (основных форофитов *L. pulmonaria*) в древостое выше в елово-березовых фито-

Рисунок — Количественные показатели *Lobaria pulmonaria* на деревьях *Populus tremula* с разной площадью боковой поверхности ствола в еловых фитоценозах подзоны северной тайги

Число талломов (а)

Средняя площадь таллома (б)



Площадь субстрата, м²

ценозах, чем в субклимаксовых ельниках, и в среднем составляет 23 и 18%, соответственно. При этом с увеличением давности нарушения с 180 до 270 лет число субстратных единиц, на которых произрастает лишайник, снижается в 2 раза — с 25 до 11 шт./га ($R^2=0,62$; $p=0,05$).

В онтогенетическом спектре ценопопуляций *L. pulmonaria* (исключая талломы ювенильного и иматурного состояний) в большинстве случаев (70%) преобладают талломы, относящиеся к виргинильным состояниям, а на долю субсенильных и сенильных талломов в среднем приходится 9 и 13%, соответственно. Важно отметить, что в ельниках отсутствуют талломы с апотециями, а в смешанных елово-березовых лесах на их долю приходится всего 2%.

В субценопопуляционном спектре в сообществах с давностью нарушения 180–200 лет на долю колонизирующих и растущих субценопопуляций приходится по 30%, а в лесах с давностью нарушения 210–270 лет — 38 и 46%, соответственно. Установлено, что в смешанных елово-березовых сообществах доля стабильных и регрессивных субценопопуляций в общем спектре в 2 раза выше, чем в ельниках черничных зеленомошных.

В изученных фитоценозах вид *L. pulmonaria* в основном колонизирует лиственные породы деревьев — *Populus tremula* (45%), *Salix caprea* (43%), *Sorbus aucuparia* (5%) и *Betula* spp. (4%). Единичные талломы были обнаружены на ветвях *Picea* spp. (3%). При этом 74% субстратных единиц *L. pulmonaria* представлены живыми деревьями, 18% приходится на сухостой, 8% — на валеж. Среди древесного отпада *L. pulmonaria* чаще всего была обнаружена на отмерших стволах *S. caprea* (75%). Интересно, что в северотаежных сообществах средняя площадь таллома *L. pulmonaria* на стволах *P. tremula* значительно ниже, чем на *S. caprea*. Так, в смешанных елово-березовых сообществах этот показатель на *S. caprea* составляет 507,7 см², на *P. tremula* — 51,2 см² (U-test, $p=0,001$). В еловых лесах наблюдается похожая тенденция: средняя площадь талломов на *S. caprea* составляет 210,8 см², на *P. tremula* — 35,7 см² (U-test, $p=0,05$).

Установлено, что с увеличением возраста *P. tremula* с 90 до 160 лет повышаются следующие таксационные параметры дерева: диаметр ствола (на высоте 1,3 м) — с 30 до 48 см ($R^2=0,74$; $p=0,001$), радиус кроны — с 2,3 до 3,2 м ($R^2=0,65$; $p=0,05$), высота — с 20 до 27 м ($R^2=0,60$; $p=0,05$), площадь субстрата (боковой поверх-

ности ствола на высоте 0–2 м) — с 1,9 до 3,2 м² ($R^2=0,75$; $p=0,05$). С ростом дерева изменяются физические и химические свойства субстрата, режим увлажнения и освещенности, а также увеличивается время, необходимое для колонизации, роста и развития лишайников. Так, было установлено, что при увеличении диаметра и площади ствола число талломов возрастает (рисунок а), а средняя площадь снижается (рисунок б.). Эти данные свидетельствуют о том, что на более крупных старых стволах осины появляются новые поколения талломов.

В еловых лесах подзоны северной тайги вид *L. pulmonaria* в большинстве случаев произрастает на положительно наклоненных поверхностях ствола, со средним значением угла наклона +16°. Талломы лишайника зарегистрированы на стволах на высоте от 6 до 192 см. На осине большинство талломов (76%) произрастает на высоте от 60 до 160 см, а на иве 65% талломов были обнаружены на высоте 60–140 см над поверхностью почвы. В единичных случаях экземпляры вида встречались на высоте > 2 м (учету не подвергались). *L. pulmonaria* преимущественно произрастает на северных и западных экспозициях ствола, и эта закономерность прослеживается для всех видов форофитов. Вероятно, это связано с тем, что для успешного произрастания вида требуется длительное нахождение таллома во влажном состоянии, а также отсутствие действия прямого солнечного света.

Сравнение полученных данных с аналогичными исследованиями в подзоне средней тайги (Игнатенко, Тарасова, 2018) показало, что параметры ценопопуляций *L. pulmonaria* имеют существенные различия. На границе ареала число колонизированных лишайником субстратных единиц и число талломов меньше, чем на юге Карелии в сходных типах леса и при такой же давности нарушения. Доля генеративных талломов в онтогенетическом спектре ценопопуляций вида в лесных сообществах подзоны северной тайги в 3 раза меньше, чем в среднетаежных сообществах. Основным форофитом для данного вида лишайника в средней подзоне тайги является *P. tremula*, тогда как в северотаежной подзоне важную роль в распространении вида, наряду с осиной, играет ива — *S. caprea*. Вероятно, это связано с тем, что в северотаежных лесах осина более редка и встречается спорадически, а ива же распространена повсеместно.

Таким образом, ценопопуляции *L. pulmonaria* в северотаежной подзоне более уязвимы к изменениям условий окружающей среды и нуждаются в особой охране.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН и гранта «Комплексная оценка восстановительного потенциала мохового и лишайникового покрова в ходе вторичных автогенных сукцессий в таежных экосистемах Северо-запада России» (Госзадание Минобрнауки 5.8740.2017/БЧ).

Список литературы

1. Yoshimura I. Lung lichens and their vegetation in Japan and the other regions // *Lobarion Lichens as Indicators of the Primeval Forests of the Eastern Carpathians* / Eds. Kondratyuk S.Y., Coppins B.J. (Kiev, 25–30 May 1998). Kiev, 1998. P. 53–63.
2. Rose F. Temperate forest management: its effects on bryophyte and lichens floras and habitats // *Bryophytes and Lichens in a Changing Environment* / Eds. Bates J.W., Farmer A.M. Oxford: Oxford Scientific Publications, Clarendon Press, 1992. P. 211–233.
3. Jüriado I., Liira J. Threatened forest lichen *Lobaria pulmonaria* — its past, present and future in Estonia // *Forestry Studies*. 2010. Vol. 53. P. 15–24.
4. Кравченко А. В., Фадеева М. А. Распространение и состояние лобарии легочной (*Lobaria pulmonaria*) на юго-востоке Фенноскандии // *Международное совещание «Лишайники boreальных лесов» и Четвертая российская полевая* лихенологическая школа: Материалы. Сыктывкар, 2008. С. 60–72.
5. Баталов А. Е., Корепанов В. И., Кочерина Е. В. и соавт. Редкие виды растений, животных и грибов лесных экосистем Архангельской области и рекомендации по их охране М.: Всемирный фонд дикой природы, 2005. 96 с.
6. Пыстина Т. Н., Семенова Н. А. Экологические особенности лишайника *Lobaria pulmonaria* (*Lobariaceae*) в Республике Коми // *Бот. Журнал*. 2009. Т. 94, № 1. С. 48–58.
7. Андреева Е. Н., Баккал И. Ю., Горшков В. В. и соавт. Методы изучения лесных сообществ. СПб.: НИИ Химии СПбГУ, 2002. 240 с.
8. Ставрова Н. И., Горшков В. В., Катютин П. Н. Формирование структуры ценопопуляций лесообразующих видов в процессе послепожарного восстановления северотаежных лесов // *Тр. КарНЦ РАН. Сер. Биogeография*. 2016. № 3. С. 10–28.
9. Михайлова И. Н. Анализ субпопуляционных структур эпифитных лишайников (на примере *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачева*. 2005. № 1. Вып. 9. С. 124–134.
10. Игнатенко Р. В., Тарасова В. Н., Марковская Е. Ф. Онтогенез лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. в растительных сообществах бореальной зоны // *Онтогенез*. 2020. Т. 51, № 2. С. 132–142.
11. Игнатенко Р. В., Тарасова В. Н. Оценка состояния лишайника лобария легочная (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) в лесных сообществах с разной давностью нарушения на Северо-западе Европейской России // *Экология*. 2018. № 4. С. 245–253.

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ЛИШАЙНИКАХ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «КАНЬОНООБРАЗНЫЙ УЧАСТОК РЕКИ ВЕЛИКОЙ» (ПСКОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Н.Б. Истомина, О.В. Лихачева

Псковский государственный университет

Выходы на поверхность девонских отложений, представленные известняковыми и известняково-мергелистыми обнажениями (Конспект..., 1970), являются уникальными ландшафтными элементами на территории Псковской области. Наиболее значительные из них приурочены к древней Изборско-Мальской долине (Карпухина и др., 2020) и долинам рек Великой, Шелони, Ловати (Геология..., 1971). Биотопы, формирующиеся на выходах известняков и карбонатных почвах, характеризуются высоким флористическим разнообразием и представляют собой особые типы растительных сообществ с большим количеством редких и подлежащих охране видов высших сосудистых растений (Конспект..., 1970). Лихенобиота подобных местообитаний, хотя остается довольно слабо изученной, также представляет несомненный интерес, о чем свидетельствуют находки, сделанные в Изборско-Мальской долине и на крепостных стенах в пос. Изборск и г. Пскове (Istomina et al., 2018).

Для сохранения ландшафтных комплексов с выходами известняков в Псковской области были созданы памятники природы регионального значения «Снеготорско-Муровицкий», «Каньонообразный участок реки Великой», «Изборско-Мальская долина» (Памятники..., 2017). В ходе изучения разнообразия различных групп организмов на данных особо охраняемых природных территориях (ООПТ) проведены инвентаризационные исследования лихенобиоты. В настоящей работе мы приводим первые сведения о видовом составе лишайников памятника природы «Каньонообразный участок реки Великой».

Памятник природы был организован в 2008 г. на границе двух административных районов Псковской области — Островского и Палкинского. Площадь ООПТ составляет 210,5 га. Протяженность каньона — 5 км, ширина — 200–300 м, высота скал — около 10 м. На территории памятника природы преобладают луговые сообщества, представленные суходольными

лугами первой надпойменной террасы и склонов, а также низинные луговые сообщества, приуроченные к низким участкам берега реки Великой (Памятники..., 2017). Основным подходящим субстратом для произрастания лишайников на территории памятника природы являются обнажающиеся выходы пластов коренных трещиноватых карбонатных пород верхнедевонской системы, расположенные на уступах первой надпойменной террасы. Кроме того, местами среди луговой растительности обнаруживаются единичные или собранные в группы гранитные валуны, частично покрытые мелкоземом. Подобные валуны, принесенные в период Валдайского оледенения подвижными ледниковыми массами, широко встречаются в регионе. Помимо каменистых субстратов лишайники на территории памятника природы произрастают на коре единичных кустарников и деревьев на склонах и террасах долины реки Великой, обработанной древесине построек и на почве.

Сбор образцов лишайников на территории памятника природы проводился авторами в полевой сезон 2017 года маршрутным методом. Определяли лишайников в лабораторных условиях стандартными методами. В работе номенклатура видов приводится по сводке A. Nordin et al. (2011).

К настоящему времени для памятника природы составлен предварительный список лишайников, насчитывающий 52 вида, относящихся к 33 родам, 16 семействам, 9 порядкам, 2 классам и 1 отделу системы, принятой во «Флоре лишайников России» (Урбанавичус, 2014). Обнаружен новый для Псковской области вид: *Circinaria calcarea* (L.) A. Nordin et al.

Анализ спектра жизненных форм лишайников показал, что на территории памятника природы преобладают накипные виды (50%), кустистые составляют 15,4%. На долю листоватых биоморф приходится 34,6%.

На исследованной территории выявлены виды лишайников четырех эколого-субстратных групп: эпифиты, эпилиты, эпигеиды, эпиксилы. Некоторые виды встречаются на разных типах субстратов, например, *Phaeophyscia orbicularis* (Neck.) Moberg, *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Parmelia sulcata* Taylor, *Platismatia glauca* W. L. Culb & C. F. Culb произрастают на коре деревьев и кустарников и на гранитных валунах.

Наибольшее число видов выявлено на каменистых субстратах — 29 (21 — на гранитных валунах, 14 — на известняке).

На гранитных валунах произрастают *Aspicilia cinerea* (L.) Somm, *Physcia caesia* (Hoffm.) Fűrnr, *P. dubia* (Hoffm.) Lettau, *Protoparmeliopsis muralis* (Schreb.) M. Choisy, *Myriolecis dispersa* (Pers.) Śliwa et al., *Montanelia soredata* (Ach.) Divakar et al., *Candelariella vitellina* (Hoffm.) Zahlbr., *Lecanora crenulata* Hook., виды родов *Xanthoparmelia* (*X. conspersa* (Ach.) Hale, *X. pulla* (Ach.) O. Blanco et al., *X. verruculifera* (Nyl.) O. Blanco) и *Lepraria* и др. На мелкозему среди моховых куртин на граните встречены виды из рода *Cladonia* (*C. coniocraea* (Florke) Spreng; *C. fimbriata* (L.) Fr.; *C. pyxidata* (L.) Fr.; *C. rei* Schaer).

К выходам известняков приурочены 14 видов лишайников. Типичными кальцефилами являются *Calogaya decipiens* (Arnold) Arup et al., *Circinaria calcarea*, *C. contorta* (Hoffm.) Hepp subsp. *contorta*, *Lecania erysibe* (Ach.) Mudd., *Placynthium nigrum* (Huds.) Gray, виды

родов *Acarospora* и *Verrucaria* и др. На дерновинках мха произрастают *Bilimbia sabuletorum* (Schreb.) Arnold и *Bacidia subincompta* (Nyl.) Arnold, на мелкозему на известковых уступах и осыпях обнаружена *Cladonia symphyrcarpa* (Flörke) Fr. Четыре из названных облигатных кальцефилов *Circinaria contorta*, *Placynthium nigrum*, *Cladonia symphyrcarpa*, *Bilimbia sabuletorum* также отмечены для выходов известняков Изборско-Мальской долины (Istomina et al., 2018).

Эпифиты (26 видов) обнаружены на коре *Padus avium* Mill. и *Cotoneaster melanocarpus* Lodd., в большом количестве произрастающего по склонам коренного берега. На этих породах выявлено 16 и 10 видов лишайников соответственно. На коре черемухи обыкновенной отмечены: *Candelariella xanthostigma* (Ach.) Lettau, *Phaeophyscia orbicularis*, *Physcia adscendens* (Fr.) H. Olivier, *P. aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Lecanora chlorotera* Nyl., *Melanelixia subargentifera* (Nyl.) O. Blanco et al., *Platismatia glauca*, *Scoliosporum sarothamnii* (Vain.) Vězda, *Usnea hirta* (L.) Weber ex F. H. Wigg., *Ramalina fraxinea* (L.) Ach., *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Rinodina sophodes* (Ach.) A. Massal. и др.

На коре кизильника черноплодного произрастают *Physcia adscendens*, *P. stellaris* (L.) Nyl., *P. tenella* (Scop.) DC., *Hypogymnia physodes*, *Parmelia sulcata*, *Lecanora carpinea* (L.) Vain., *L. pulicaris* (Pers.) Ach., *Rinodina septentrionalis* Malme, *Melanohalea olivacea* (L.) O. Blanco et al., *Polyscauliona polycarpa* (Hoffm.) Th. Fr. ex Rieber. Данный вид кустарников приурочен к выходам известняков, встречается в области редко. Видовой состав его эпифитов ранее не отмечался.

На гниющей древесине произрастают 8 видов лишайников. Среди них *Amandinea punctata* (Hoffm.) Coppins & Scheid., *Lecanora expallens* Ach., *L. pulicaris* (Pers.) Ach., *L. symmicta* (Ach.) Ach., *L. varia* (Hoffm.) Ach., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. и др.

Обнаружен один вид почвенных лишайников — *Peltigera rufescens* (Weiss) Humb.

На территории памятника природы выявлен 1 новый вид для территории Псковской области (*Circinaria calcarea*), 1 вид (*Ramalina fraxinea*) — подлежащий охране в регионе (Красная..., 2014), 1 вид (*Melanelixia subargentifera*) — индикаторный вид малонарушенных сообществ (Выявление..., 2009).

Видовое разнообразие лишайников подтверждает природоохранный потенциал территории памятника природы «Каньонообразный участок реки Великой».

Список литературы

1. Конспект флоры Псковской области. Л., 1970. 176 с.
2. Карпухина Н. В., Бричева С. С., Константинов Е. А., Татарников О. М., Маккавеев А. Н., Захаров А. Л. О происхождении террас в погребенных долинах на Северо-Западе Восточно-Европейской равнины. Геология и геофизика. 2020. DOI: 10.15372/GiG2020105. (опубликовано on-line)
3. Геология СССР. Том 1. Ленинградская, Псковская и Новгородская области. Геологическое описание. М., 1971. 504 с.
4. Istomina, N. B., Likhacheva, O. V., Stepanchikova, I. S., Kuznetsova, E. S., & Himelbrant, D. E. New and rare lichens and allied fungi from the Pskov Region, Russia.

- Folia Cryptogamica Estonica. 2018. 55: 21–31. <https://doi.org/10.12697/fce.2018.55.04>
- Памятники природы Псковской области. Псков, Монография. / Под общ. ред. А. В. Истомина. Псков: Псковский государственный университет, 2017. 298 с.
 - Nordin A., Moberg R., Tønsberg T., Vitikainen O., Dalsätt Å., Myrdal M. et al. Santesson's Checklist of Fennoscandian Lichen-forming and Lichenicolous Fungi. 2011. Ver. April 29, 2011. <http://130.238.83.220/santesson/home.php>.
 - Урбанавичус Г. П. Систематическая классификация таксонов лишенофлоры России. Флора лишайников России: Биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения лишайников / Отв. ред. М. П. Андреев, Д. Е. Гимельбрант. М.; СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. С. 260–291.
 - Красная книга Псковской области. Псков, 2014. 544 с.
 - Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России. Т. 2. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов / Отв. ред. Л. Андерссон, Н. М. Алексеева, Е. С. Кузнецова. СПб., 2009. 258 с.

ВЛИЯНИЕ ФОРОФИТА НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ЭПИФИТНОМ ЛИШАЙНИКЕ *HYPOGYMNIА PHYSODES* В ЕЛЬНИКЕ НА КОЛЬСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ

Катаева М.Н., Беляева А.И., Евдокимов А.С.

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

Биоиндикационные свойства лишайников позволяют использовать их для анализа поступления химических элементов с осадками в связи с влиянием древесного полога фитоценоза. Цель исследования — установить влияние форофита на накопление тяжелых металлов в эпифитном лишайнике *Hypogymnia physodes* в старовозрастном ельнике зеленомошном, определить содержание тяжелых металлов в лишайнике и установить пределы их изменения в фитоценозе. Территории вокруг металлургических производств могут служить для изучения физиологического состояния лишайников, распределения осадков и с ними металлов компонентов техногенных выбросов. При сокращении количества ежегодных аэротехногенных выбросов медно-никелевого комбината «Североникель» необходимо установление современных фоновых концентраций тяжелых металлов в лишайниках в качестве ориентира при сопоставлениях накопления металлов в них в градиенте загрязнения среды. Варьирование концентраций тяжелых металлов в лишайниках на разных форофитах в фитоценозе остается не изученным. Нами было проведено концентраций металлов в лишайнике *Hypogymnia physodes* на разных форофитах. В хвойных лесах северотаежной подзоны тайги лишайник *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. — обычный эпифитный лишайник, встречающийся на лиственных и хвойных породах, и рекомендуется как индикаторный вид. В июле 2019г. в ельнике зеленомошном на расстоянии 70 км от источника выбросов по основному направлению их переноса собраны лишайники и их субстраты на ели сибирской и березе пушистой. Определяли возраст деревьев ели — 130–250 лет по кернам и спилам при подсчете годовых приростов.

Лишайники и субстраты — тонкий слой корки стволов ели 1–3 мм и березы, корку сухих ветвей ели собирали по всей окружности крон деревьев ели — 4 экз., березы — 4 экз. на высоте таксационного диаметра 1,3 м. Корка стволов ели образует пластины. Биологическую повторяемость представляют образцы с каждого

дерева. Образцы лишайников и их субстратов корки ветвей, корки стволов, также листьев березы и хвой ели очищали от посторонних примесей и высушивали в термостате. Анализировали сравнимые по размерам талломы. Концентрации металлов Ni, Cu, Cd, Pb, Mn, Fe в образцах лишайников и их субстратов определены на атомно-абсорбционном спектрофотометре Квант-А-ФА, Россия, в лаборатории экологии растительных сообществ.

Средние значения концентраций металлов вычисляли по результатам анализов образцов лишайника с одного типа форофита. Установлено, что накопление металлов компонентов выбросов на Кольском полуострове в ельнике выше в лишайнике на сухих ветвях в кроне ели сибирской. Средняя концентрация Ni на ветвях ели *H. physodes* — 20,9 мг/кг, Cu — 25,8 мг/кг, Pb — 4,01 мг/кг, Cd — 0,144 мг/кг. На стволах березы концентрации металлов в лишайнике ниже, средние значения в *H. physodes* Ni уменьшаются в 2,12 раза — 9,86 мг/кг, Cu в 2,15 раза — 12,0 мг/кг, и в 2,36 раза меньше Pb — 1,70 мг/кг. Концентрация Cd в лишайнике на стволах березы имеет тенденцию к возрастанию до 0,27 мг/кг. Лишайник на ветвях ели накапливает в 1,92 раза больше Fe, в среднем 478 мг/кг, чем на стволах березы.

В субстратах лишайника обнаружено сходное распределение металлов. Корка ветвей ели сильнее загрязнена Ni, Cu, Pb, Cd, Fe, по сравнению с коркой стволов ели. По сравнению с корой ствола ели (3,58 мг/кг), в коре ветвей ели в 3,65 раза выше концентрация Ni — 13,1 мг/кг. В коре ветвей ели концентрация Cu выше в 2,66 раза, она возрастает от 7,76 до 20,6 мг/кг, Pb выше в 3,77 раза, от 1,68 до 6,34 мг/кг. Меньшие концентрации этих элементов, по сравнению с елью, в коре березы. В древесине сухих ветвей ели содержатся следовые концентрации Cu, Pb, Ni, менее 1 мг/кг, что показывает поступление из почвы.

Накопление Zn в лишайнике *H. physodes* определяется влиянием форофита. Цинка больше накапливается в лишайнике, растущем на стволах березы пу-

шистой. Средняя концентрация Zn в *H. physodes* на стволах березы — 70,0 мг/кг, в 1,44 раза больше, чем в этом виде местообитаний на сухих ветвях в кроне ели. Накопление цинка на березе обычно для лишайников в их природной среде обитания. В лишайнике в разных типах местообитаний более контрастные средние концентрации характерны для металлов-компонентов выбросов цветной металлургии — Ni, Cu, Cd, Pb. Береза пушистая может использоваться для оценки средних значений накопления всех металлов в лишайниках при сопоставлении, кроме цинка.

Химический состав эпифитных лишайников тесно связан с их атмосферным способом питания и поступлением осадков в фитоценозе, проходящих через кроны. Анализ листьев березы и хвой ели, собранных в местообитаниях лишайников в ельнике, выявил обычные концентрации тяжелых металлов. В хвое ели средняя концентрация Ni — 1,77, Cu — 2,38, Zn — 67,0 мг/кг. Береза пушистая накапливает в листьях близкие концентрации Ni — 3,50, Cu — 4,74 мг/кг, но в листьях березы больше Zn — 97,4 мг/кг, что соответствует составу лишайников, растущих на стволах березы. Высокое содержание Mn накапливают в хвое ель сибирская, до 680–1130 мг/кг, и листья березы пушистой, 660 мг/кг. Это способствует миграции Mn с осадками и улучшению питания лишайников. На ветвях ели и березе лишайник *H. physodes* накапливал 260 и 220 мг/кг Mn соответственно. Содержание Cd несколько выше в листьях березы (0,097 мг/кг), чем в хвое ели (0,018 мг/кг). Низкие концентрации Pb обнаружены в хвое ели и листьях березы (0,50 мг/кг). В лишайнике на ветвях ели концентрации Pb возрастают, по-видимому, за счет смывания с кроны.

Осадки контактируют с древесным пологом. В фитоценозе состав кроновых вод, как и содержание в них

тяжелых металлов, всегда является более концентрированным по отношению к выпадающим осадкам на открытом месте, из-за задерживания осадков кронами (Галенко, 1973). Эта закономерность сильнее проявляется в условиях техногенного загрязнения (Никонов, Лукина, 2000). Крона ели концентрирует металлы компоненты выбросов, что влияет на их накопление в эпифитном лишайнике *H. physodes* даже на значительном расстоянии (70 км) от источника выбросов.

Продолжительность действия выбросов медно-никелевых производств Кольского полуострова на лесные сообщества привела к накоплению металлов-загрязнителей в лишайниках. При современном снижении количества аэротехногенных выбросов и тенденции к улучшению экологической обстановки после снижения уровня атмосферных выпадений медно-никелевого комбината «Североникель» содержание металлов в лишайниках в фитоценозах осталось довольно высоким. Результаты показывают, что эпифитные лишайники являются долговременными индикаторами загрязнения тяжелыми металлами. Данные, полученные нами, могут использоваться при сопоставлении уровней загрязнения при изучении видовой разнообразия лишайников, состояния лишайникового покрова в зонах загрязнения металлургического производства.

Список литературы

1. Галенко Э. П. Задержание осадков пологом хвойного леса в северотаежной подзоне Коми АССР // Труды Коми филиала АН СССР. 1973. 26. С. 133–137.
2. Никонов В. В., Лукина Н. В. Влияние ели и сосны на кислотность и состав атмосферных выпадений в северо-таежных лесах индустриально-развитого региона // Экология. 2000. №2. С. 97–105.

ОЦЕНКА СКОРОСТИ РОСТА ЭПИЛИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ И ПРОБЛЕМЫ ЛИХЕНОМЕТРИИ

Курбатов А.А., Сонина А.В.

Петрозаводский государственный университет

Метод лихенометрии — один из экономичных по затратам, удобных и информативных хронологических инструментов для датирования возраста каменных объектов [1]. Этот метод пользуется популярностью у гляциологов, успешно используется в геоморфологии [2], [3], а в последнее время к этому методу все чаще обращаются археологи, когда в случае недостатка органического материала другие методы (например, радиоуглеродное датирование) неэффективны [4].

Основной принцип использования лишайников для датирования заключается в том, что при известной взаимосвязи между размером и возрастом лишайников, возраст датируемой поверхности можно определить по размеру присутствующих талломов лишайников [5]. Основным требованием, предъявляемым к лишайникам, является медленный рост и радиальная форма таллома. В качестве индексов возраста чаще всего используют диаметр самого крупного таллома

лишайники, либо выборочные характеристики, например, модальные, медианные и средние значения [5], [6], реже используется площадь талломов, а также индексы кривых, описывающих частотные распределения и вариационные ряды случайных выборок диаметров талломов [7]. Несмотря на то, что в лихенометрии применяется порядка 30 видов лишайников [1], на первом месте по частоте использования и изученности стоит *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC — медленно растущий, долгоживущий, накипной вид, широко представленный на каменных поверхностях [8]. Чаще всего лихенометрия основывается на косвенных методах датирования, а именно на анализе кривых роста лишайников, которые растут на субстратах известного возраста [9]. Значительно меньше исследований касается прямых наблюдений за темпами роста лишайников, в основном из-за практических трудностей, связанных с длительным сроком наблюдения в силу медленного

роста лишайников и выбором индексов роста для возможности их многолетнего мониторинга [1].

В настоящем исследовании мы изучили скорость роста, оценили возраст эпилитных лишайников в пределах одного скального фрагмента и проанализировали возможность их использования в лихенометрии. В качестве объектов исследования выбраны два вида: *Lecanora muralis* (Schreb.) Rabenh. — леканора настенная (диморфный таллом, в центре — наипной, по периферии — листоватый) и *Bellemeria alpina* (Sommerf.) Clauzade & Cl. Roux — беллемерия альпийская (накипной ареолированный таллом), широко представленных на каменных поверхностях в пределах Северо-запада России. Исследование выполнено на прибрежных дибах реки Суны в ГПЗ «Кивач» на постоянных мониторинговых площадках, заложенных в 2007 году для изучения роста некоторых эпилитных видов лишайников. В качестве индекса возраста использовали площадь таллома, которую рассчитывали в лабораторных условиях по контурам таллома в программе AutoCAD. Проанализированы приросты 17 талломок леканоры и 17 талломок беллемерии за 11-летний период (2007–2018 гг.).

В диапазоне зафиксированных размеров талломок (для *Lecanora muralis* от 1,17 до 26,39 см², для *Bellemeria alpina* — 2,20...30,80 см²) наблюдается линейный рост, соответственно скорость роста талломок (см² в год) постоянна. У вида *Lecanora muralis* скорость роста талломок варьирует в диапазоне 0,20...1,51 см² в год, средняя скорость роста в выборке — 0,68 см² в год. Возраст талломок в выборке находится в диапазоне 12...25 лет, средний возраст — 17 лет. Учитывая, что скорость роста исследуемых талломок отличалась в 7,5 раза, размер одновозрастных талломок и возраст одноразмерных талломок может отличаться в 7,5 раза (таблица 1).

У вида *Bellemeria alpina* скорость роста талломок отмечается в диапазоне 0,19...0,64 см², средняя скорость роста — 0,45 см² в год. Возраст талломок в выборке составляет 21...51 год, средний возраст исследуемых талломок — 38 лет. Скорость роста исследуемых талломок отличалась в 3,4 раза, а следовательно и размер одновозрастных талломок и возраст одноразмерных талломок может отличаться в 3,4 раза (таблица).

Проведенный анализ показал, что одновозрастные талломы в пределах даже небольшой площади обследования (несколько квадратных метров) могут значительно различаться по размерам и по скорости роста. Можно предположить, что максимальные размеры в ценопопуляции будут иметь талломы, обладающие высокой скоростью роста, талломы с низкой скоростью роста должны иметь значимо меньшие размеры в силу ограниченной продолжительности жизни организмов. Поэтому самый большой таллом в выборке не обязательно будет самым старым, а значительно различающиеся талломы по размерам в выборке могут иметь примерно одинаковый возраст. Например, в моделях продолжительность линейного роста самого большого таллома леканоры настенной, достигшего 26 см² и имеющего скорость роста 1,34 см² в год, составляет 19 лет, а время роста таллома размером 21 см² со скоростью роста 0,85 см² в год, составляет 23 года, и он является самым старым в выборке. Эта же закономерность прослеживается и для талломок беллемерии.

Таблица — Рост и возраст талломок *Lecanora muralis* и *Bellemeria alpina*

Размер талломок, см ²	Скорость роста <i>Lecanora muralis</i> , см ² в год			Скорость роста <i>Bellemeria alpina</i> , см ² в год		
	0.2	0.85	1.51	0.19	0.42	0.64
	Возраст талломок					
1	5	1	1	5	2	2
2	10	2	1	11	5	3
3	15	4	2	16	7	5
4	20	5	3	21	10	6
5	25	6	3	26	12	8
6		7	4	32	14	9
7		8	5	37	17	11
8		9	5	42	19	13
9		11	6	47	22	14
10		12	7		24	16
11		13	7		27	17
12		14	8		29	19
13		15	9		31	20
14		16	9		34	22
15		18	10		36	23
16		19	11		39	25
17		20	11		41	27
18		21	12		43	28
19		22	13		46	30
20		24	13		48	31
21		25	14		51	33
22			15			34
23			15			36
24			16			38
25			17			39
26			17			41
27						42
28						44
29						45
30						47
31						48

В результате проведенного исследования впервые получены данные по скорости и особенностям роста эпилитных лишайников *Lecanora muralis* и *Bellemeria alpina* в условиях Южной Карелии. Настоящее исследование на основании анализа скорости роста талломок разных биоморф подтвердило ожидания и показало, что леканора настенная, имеющая диморфный таллом, растет быстрее и имеет меньшую продолжительность жизни, чем накипные ареолированные талломы беллемерии альпийской. Более интересным оказался результат анализа скорости роста отдельных талломок этих видов в пределах прибрежной скалы. Выявлено значительное варьирование скорости роста талломок, что свидетельствует о значительном варьировании возраста в пределах одноразмерных талломок лишайников и напротив

разноразмерные талломы могут быть одновозрастными. Это может быть объяснено чувствительностью талломов к изменчивым условиям на побережье, конкурентным взаимодействиям как между талломами внутри одного вида, так и между разными видами лишайников. Дж. С. Ноллер и В. В. Локе [10], говоря о проблемах использования прямых наблюдений в лихенометрии, отмечали высокую чувствительность лишайников к климату из-за чего кривые роста, полученные для одного региона, не могут быть применимы в других регионах. Наши исследования указывают на то, что фактически для каждой территории, со своими климатическими и микроклиматическими особенностями, нужно иметь данные о закономерностях роста лишайников.

Список литературы

1. Trenbith H. E. Lichenometry /Geomorphological Techniques, 2010. — Chap. 4. — Sec. 2.7 [https://www.researchgate.net/publication/281609233_Lichenometry]
2. Галанин А. А. Лихенометрия: современное состояние и направления развития метода. Магадан : СВКНИИ, 2002. — 74 с.
3. Armstrong R. A. Lichens, lichenometry and global warming // The Microbiologist, 2004. — Vol. 5. — 32–35 с.
4. Сони́на А. В., Шахнович М. М., Чекалева К. А., Курбатов А. А. Опыт лихенометрического датирования исторических сооружений из камня на территории Республики Карелия // Современная микология в России. — М., 2017. — Т. 6. — С. 350–352.
5. Innes J. L. Lichenometry // Progress in Physical Geography, 1985. — Vol. 9. — № 2. 187–254 p.
6. Никонов А. А., Шебалина Т. Ю. Лихенометрический метод датирования сейсмодислокаций (методические аспекты и опыт использования в горах юга Средней Азии). — М. : Наука, 1986. — 185 с
7. Галанин А. А. Лихенометрический метод изучения криогенных процессов // Наука и техника в Якутии, 2012. — № 1 (22): [http://www.st-yak.narod.ru/pdf/22-2.pdf]
8. Loso M. G., Doak D. F. The biology behind lichenometric dating curves // Oecologia, 2006. — No. 147. — 223–229 p.
9. Mottershead D. N. Lichenometry — some recent applications. In Timescales in Geomorphology / Davidson R. A., Lewin J. (eds). Wiley & Sons Ltd.: Chichester, 1980. — 95–108 p.
10. Noller J. S., Locke W. W. Lichenometry. In Quaternary Geochronology: Methods and Application / Noller J. S., Sowers J. M., Lettis W. R. (eds). American Geophysical Union: Washington, 2000. — 261–272 p.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *HYROGYMNIА PHYSODES* В РАЗНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ

Мейсу́рова А.Ф.¹, Нотов А.А.¹, Пунгин А.В.²

¹Тверской государственный университет, Тверь

²Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград

Лишайники — это сложная симбиотическая система высокого уровня целостности, в которой сопряжены разные с точки зрения физиологии и биохимии организмы. Механизмы функциональной координации фото- и микобионта еще недостаточно изучены. В этой связи, большой интерес представляют исследования по экологической физиологии. Современный арсенал физико-химических методов позволяет одновременно определять различные показатели, характеризующие особенности энергетического и пластического обмена, разные аспекты метаболизма. Комплексные физиолого-биохимические исследования одного объекта в разных экологических условиях позволяют выявлять механизмы адаптации и характер функциональной взаимосвязи между различными процессами при изменении параметров среды. Цель нашей работы — сопряженный анализ физиолого-биохимических показателей *Hyrogymnia physodes* (L.) Nyl. в разных фитоценозах в пределах антропогенно ненарушенного природного комплекса.

Материал собран 19 июня 2019 г. в южной части Нелидовского района Тверской области в лесном массиве около озера Боровское. Изучены образцы *Hyrogymnia*

physodes из березняка и сосняка ландышево-брусничного, ельника ландышево-кисличного, черноольшаника молиниевое-тростникового. Местообитания отличались по уровню освещенности и режиму влажности воздуха.

Проанализированы следующие физиолого-биохимические показатели: содержание в талломах хлорофиллов *a* и *b* (Chl *a*, Chl *b*), общего азота (ОА), фенольных соединений (ФС) и антиоксидантная активность (АОА). Содержание хлорофиллов определено на спектрофотометре UV-3600 (Shimadzu, Япония) при длине волны 665 и 648 нм согласно методике Барнеса [1–2]. Рассчитан КФ [1]. Процентное содержание ОА определено спектрофотометрическим методом [3]. Общее содержание ФС выявляли методом Фолина-Чокальтеу [4]. АОА экстрактов определена амперометрическим методом на приборе «Цвет-Яуза 01-АА» (НПО «Химавтоматика», Россия) [5] и по способности улавливать свободные радикалы DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразила). Статистическая обработка данных и определение параметров проведены с помощью стандартных методов математической статистики и использованием лицензионных

программных продуктов Microsoft Office Excel 2013 и IBM SPSS Statistics 23.

При анализе содержания хлорофиллов *a* и *b* в изученных образцах *Hypogymnia physodes* установлено, что содержание хлорофилла *a* всегда выше ($p \leq 0,05$), чем хлорофилла *b* в среднем в 2,6 раза (рис. 1) [1]. Более высокое содержание хлорофилла *a* отмечено в образцах из ельника ($1,60 \pm 0,09$ мг/г; $p \leq 0,05$) и (рис. 1), по сравнению с образцами из черноольшаника и сосняка ($1,08 \pm 0,05$ и $1,07 \pm 0,04$ мг/г соответственно; $p \leq 0,05$), наименьшее содержание установлено в березняке ($0,85 \pm 0,03$ мг/г). Для концентрации хлорофилла *b* зависимость обратная — более высокие показатели (выше среднего значения) отмечены в сосняке и березняке ($0,50 \pm 0,03$ и $0,48 \pm 0,01$ мг/г соответственно). Полученные данные свидетельствуют о том, что основным фактором, определяющим уровень содержания фотосинтетических пигментов, является световой режим, что согласуется с данными литературы [1, 6].

Сопоставление показателей для образцов из местообитаний с разным освещением со средними значениями позволяет выявить основные тенденции преобразования параметров фотосинтетической системы в условиях различных световых режимов (рис. 1). Снижение уровня освещенности приводит к увеличению суммарного содержания фотосинтетических пигментов и содержания хлорофилла *a*, но при этом несколько снижается содержание хлорофилла *b*. При возрастании интенсивности освещения суммарное содержание фотосинтетических пигментов и концентрация хлорофилла *a* снижаются, а абсолютное и относительное содержание хлорофилла *b* повышается. В контрастных по световому режиму фитоценозах (ельник — березняк и сосняк) различия по показателям фотосинтетической системы могут достигать значительного уровня. Хлорофилл *a* является наиболее лабильным элементом фотосинтетической системы. Амплитуда варьирования его содержания при изменении условий освещения по сравнению с хлорофиллом *b* больше в 5,4 раза, а тенденция к повышению концентрации при слабом освещении выявляется четче. Адаптация фотосинтетической системы к недостаточному освещению обеспечивается в основном благодаря хлорофиллу *a*. В усло-

виях яркого солнечного света высокой интенсивности в определенной степени проявляется адаптивная роль и хлорофилла *b*.

Коэффициент феофитинизации отражает уровень деградации хлорофиллов. Значения КФ для всех изученных местообитаний достоверно различимы ($p \leq 0,05$) и варьируют от $0,94 \pm 0,02$ (березняк) до $1,06 \pm 0,02$ (ельник), среднее значение соответствует 1,0 (рис. 1). Относительная стабильность этого показателя свидетельствует об отсутствии в исследуемом районе выраженного техногенного воздействия [7]. Выявленная тенденция к незначительному увеличению КФ при уменьшении интенсивности освещения, связана с увеличением фотосинтетических пигментов, в частности хлорофилла *a* [7].

Обнаружена тенденция к повышению уровня содержания общего азота в условиях выраженного затенения. В образцах из ельника установлено максимальное содержание ОА — $0,58 \pm 0,01\%$ ($p \leq 0,05$). Выявлена тенденция к снижению содержания фенольных соединений в условиях слабого освещения, так в ельнике содержание ФС составляло $14,20 \pm 0,29$ мг/г. Самые высокие показатели, обнаружены в образцах из сосняка и березняка ($18,26 \pm 0,31$ и $17,81 \pm 0,22$ мг/г соответственно). Зависимость содержания фенольных соединений в лишайниках от уровня освещенности отмечена в литературе [8].

Средняя величина АОА в талломах лишайника составила $1,13 \pm 0,04$ мг-экв. кверцетина/г. В условиях более интенсивного освещения уровень АОА превышает средние показатели. Например, в сосняке — $1,43 \pm 0,03$ мг-экв. кверцетина/г. Изменение светового режима, сопряженное также с большей влагообеспеченностью воздуха и возрастанием степени ее стабильности, вероятней всего, приводит к уменьшению АОА.

Корреляционный анализ не выявил значимых связей между содержанием хлорофиллов *a* и *b* (рис. 2). Однако сильные корреляционные взаимозависимости связывают концентрации хлорофилла *a* с величиной коэффициента феофитинизации ($r = -0,91$; $p \leq 0,01$), уровнями содержания общего азота ($r = 0,84$; $p \leq 0,05$) и фенольных соединений ($r = -0,83$; $p \leq 0,01$). Все три связанных с концентрацией хлорофилла *a* показателя попарно сопря-

Рис. 1 — Характеристика фотосинтетической системы образцов *Hypogymnia physodes* из разных фитоценозов

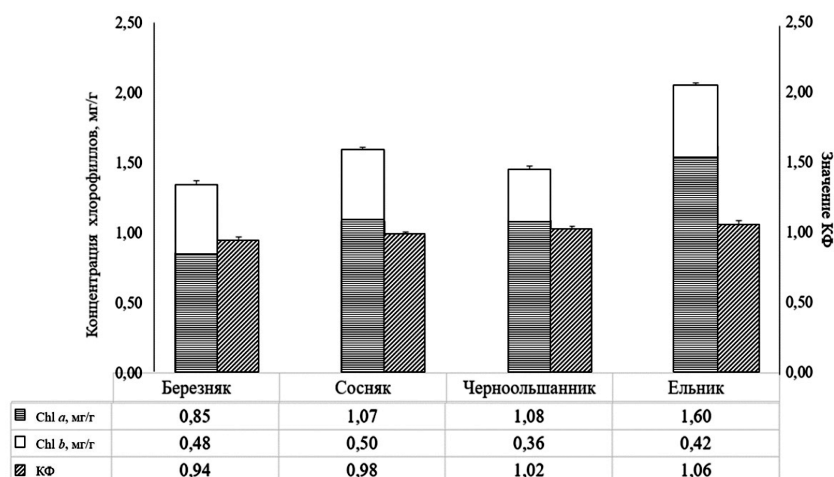
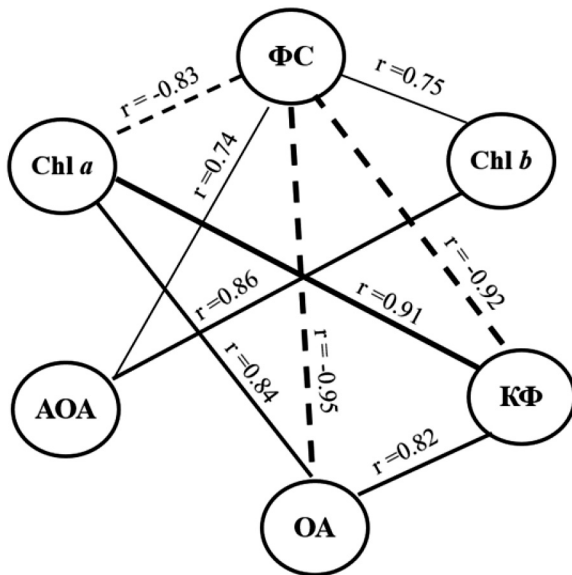


Рис. 2 — Корреляционные связи между физиолого-биохимическими показателями образцов *Hypogymnia physodes*: « — » — прямые связи; «- -» — обратные связи



жены между собой посредством сильных прямых или обратных связей (рис. 2). Это свидетельствует о высокой согласованности энергетического и пластического обмена и существенной роли уровня содержания хлорофилла *a* в координации процессов синтеза фенольных соединений и азотного метаболизма у лишайников.

Благодаря сопряженности концентрации хлорофилла *b* с уровнем содержания фенольных соединений ($r = 0,75$; $p \leq 0,05$) и антиоксидантной активностью ($r = 0,86$; $p \leq 0,05$) может происходить координация параметров фотосинтетической системы в условиях реализации защитных реакций в стрессовых ситуациях. Все три показателя попарно взаимосвязаны, поэтому посредством сильной обратной зависимости между концентрациями фенольных соединений и хлорофилла *a* обеспечивается косвенная связь между основными фотосинтетическими пигментами — хлорофиллами *a* и *b* (рис. 2). Содержание фенольных соединений достаточно четко коррелирует с различными физиолого-биохимическими показателями. Описанные особенности системы корреляционных связей четко проявляются при сопоставлении физиолого-биохимических параметров образцов в контрастных экологических условиях. На изученной нами модельной территории в условиях выраженного затенения в образцах из ельника обнаружена минимальная концентрация фенольных соединений. В этих образцах выявлено также максимальное содержание хлорофилла *a*, азота и самый высокий коэффициент феофетинизации. При этом содержание хлорофилла *b* очень низкое.

Таким образом, в условиях выраженного затенения в ельнике в талломах *Hypogymnia physodes* выявлено существенное увеличение содержания хлорофилла *a* и общего азота, максимальное значение коэффициента феофетинизации и минимальная концентрация фенольных соединений. При ярком освещении в березняке и сосняке большинство этих показателей приобретают минимальные значения, а содержание фенольных соединений становится максимальным. Анализ взаимной корреляции физиолого-биохимических показателей позволил выявить сложную систему корреляционных связей. Она свидетельствует о высокой скоординированности различных физиологических процессов. Значительную роль в поддержании их согласованности при изменении экологических условий играет хлорофилл *a*, с содержанием которого коррелирует более значительное число различных показателей.

Список литературы

1. Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., Davison A.W. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants // *Environmental and Experimental Botany*. 1992. V. 32. № 2. P. 85–100.
2. Мейсурова А.Ф., Нотов А.А., Пунгин А.В. Фотосинтетические пигменты в образцах лишайника *Hypogymnia physodes* при разном уровне содержания металлов // *Журн. прикладной спектроскопии*. 2017. Т. 84. № 6. С. 961–968.
3. Воскресенская О.Л., Алябшева Е.А., Половникова М.Г. Большой практикум по биоэкологии. Ч. 1. Йошкар-Ола, 2006. 107 с.
4. Khadhri A., Mendili M., Araújo M.E.M., Seaward M.R. Comparative study of secondary metabolites and bioactive properties of the lichen *Cladonia foliacea* with and without the lichenicolous fungus *Heterocephalacria bachmannii* // *Symbiosis*. 2019. V. 79. № 1. P. 25–31.
5. Yashin A.Y. A flow-injection system with amperometric detection for selective determination of antioxidants in foodstuffs and drinks // *Russ. J. Gen. Chem.* 2008. V. 78. № 12. P. 2566–2571.
6. Paoli L., Pisani T., Munzi S., Gaggi C., Loppi S. Influence of sun irradiance and water availability on lichen photosynthetic pigments during a mediterranean summer // *Biologia*. 2010. V. 65. № 5. P. 776–783.
7. Андросова В.И., Марковская Е.Ф., Семенова Е.В. Фотосинтетические пигменты лишайников рода *Cladonia* скальных лесных сообществ горы Оловгора (Архангельская область) // *Успехи соврем. естествознания*. 2015. № 2. С. 120–125.
8. Solhaug K.A., Lind M., Nybakken L., Gauslaa Y. Possible functional roles of cortical depsides and medullary depsidones in the foliose lichen *Hypogymnia physodes* // *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2009. V. 204. № 1. P. 40–48.

ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ В СПИСКЕ ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Мучник Е.Э.¹, Казакова М.В.²¹Институт лесоведения РАН, с. Успенское²Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина

Раздел «Лишайники» действующего, второго издания Красной книги Рязанской области [1] содержит 22 вида, еще 7 видов включены в список нуждающихся в особом контроле и наблюдении. За истекший почти 10-летний период времени исследования в области продолжались, расширилась их география, сделаны новые находки редких видов, опубликовано значительное число работ, в том числе, с конспектами лихенобиоты крупных особо охраняемых природных территорий — Окского государственного природного биосферного заповедника [2], Национального парка «Мещерский» [3]. Осуществлены ревизии гербарных коллекций Окского заповедника (ОКА) и Рязанского государственного университета (RSU), ведется общая база данных (в программе MS Access) «Лихенобиота Рязанской области», в которой отражаются все находки, результаты ревизий и современные номенклатурные изменения. В итоге общий список лишайников и близких к ним нелихенизированных грибов на сегодняшний момент включает 384 вида (для сравнения, в 2011 г. — 286 видов). Соответственно, существенные изменения должны произойти и в списке охраняемых видов для следующего издания региональной Красной книги, запланированного на 2021 г.

Часть изменений связана с ревизией гербарных коллекций. Из списка охраняемых (и лихенобиоты Рязанской области в целом) из-за переопределения образцов исключены виды *Cladonia glauca* Flörke и *Neofuscelia pulla* (Ach.) Essl. Переопределение последнего дает основание включить в список охраняемых с тем же статусом (категория 3 — редкий вид) *Xanthoparmelia delisei* (Duby) O. Blanco et al. [4]. Значительная часть образцов *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach. переопределены, как *R. europaea* Gasparyan, Sipman et Luking, вследствие чего

R. pollinaria из списка нуждающихся в контроле и наблюдении рекомендуется занести в основной список охраняемых видов с категорией 1 (находящийся под угрозой исчезновения).

Bryoria subcana (Nyl. ex Stiz.) Brodo et D. Hawksw согласно используемой авторами номенклатуре обновляемого ресурса [5] сведен в синонимы к *B. fuscescens* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw., соответственно в списке охраняемых остается последний, с прежним статусом (категория 3).

Проведенные в последние 10 лет исследования, новые находки и их анализ дают основание для изменения статуса большинства видов, категория которых в ныне действующем издании региональной Красной книги соответствует видам неопределенного статуса (4 кат.), а также для занесения в списки охраняемых ряда таксонов, редких не только в Рязанской области, но и в сопредельных регионах (Таблица).

В список видов, нуждающихся в контроле и наблюдении, рекомендовано внести следующие лишайники: анаптихия реснитчатая — *Anaptychia ciliaris* (L.) Körb.; кладония северная — *Cladonia borealis* Stenroos; кладония шариконосная — *Cladonia coccifera* (L.) Willd.; меланохалеа шероховатая — *Melanohalea exasperata* (De Not.) O. Blanco et al.; пармелина липовая — *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale; пельтигера мягкая — *Peltigera canina* (L.) Willd.; пельтигера понойская — *Peltigera malacea* (Ach.) Funck; пельтигера понойская — *Peltigera ponojensis* Gyeln.; фискония изидиозная — *Physconia perisidiosa* (Erichsen) Moberg; платизматия сизая — *Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. et C.F. Culb.; рамалина европейская — *Ramalina europaea* Gasparyan, Sipman et Luking; рамалина мучнистая — *Ramalina farinacea* (L.) Ach.; уснея жестковолосатая — *Usnea hirta* (L.) Weber ex F.H. Wigg.

Таблица — Списки лишайников, занесенных в Красную книгу Рязанской области [1], и рекомендуемых к занесению в следующее издание региональной Красной книги

Отдел СУМЧАТЫЕ ГРИБЫ — Ascomycota. Подотдел Пецицовые — Pezizomycotina. Класс Lecanoromycetes — Леканоровые. Порядок Lecanorales — Леканоровые	Категория	
	Красная книга..., 2011	Новое, 3-е, издание
Семейство Cladoniaceae — Кладониевые		
Кладония палочковидная — <i>Cladonia bacilliformis</i> (Nyl.) Glueck	–	3
Кладония Флерке — <i>Cladonia floerkeana</i> (Fr.) Flörke	–	3
Кладония бескорая — <i>Cladonia decorticata</i> (Flörke) Spreng.	–	1
Кладония сизая — <i>Cladonia glauca</i> Flörke	3	исключен
Кладония мадьярская — <i>Cladonia magyarica</i> Vain.	–	3
Кладония паразитная — <i>Cladonia parasitica</i> (Hoffm.) Hoffm.	3	3
Кладония бокоплодная — <i>Cladonia pleurota</i> (Flörke) Schaer.	–	3
Кладония ветвистая — <i>Cladonia ramulosa</i> (With.) J.R. Laundon	3	1
Кладония оленерогая — <i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm.	–	1
Кладония оленероговидная — <i>Cladonia subrangiformis</i> Sandst.	3	3
Кладония чешуйчатая — <i>Cladonia squamosa</i> Hoffm.	–	1
Кладония сростноплодная — <i>Cladonia symphyocarpa</i> (Flörke) Fr.	3	3

Окончание таблицы

Отдел СУМЧАТЫЕ ГРИБЫ — Ascomycota. Подотдел Пецицовые — Pezizomycotina. Класс Lecanoromycetes — Леканоровые. Порядок Lecanorales — Леканоровые	Категория	
	Красная книга..., 2011	Новое, 3-е, издание
Семейство Graphidaceae — Графидовые		
Диплосхистес моховой — <i>Diploschistes muscorum</i> (Scop.) R. Sant.	–	3
Диплосхистес неровный — <i>Diploschistes scruposus</i> (Schreb.) Norman	–	3
Семейство Parmeliaceae — Пармелиевые		
Бриория буроватая — <i>Bryoria fuscescens</i> (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw.	3	3
Бриория Надворника — <i>Bryoria nadvornikiana</i> (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw.	3	3
Бриория сивоватая — <i>Bryoria subcana</i> (Nyl. ex Stiz.) Brodo et D. Hawksw	4	Сведен в синоним
Флавопармелия козлиная — <i>Flavoparmelia caperata</i> (L.) Hale	4	1
Гипогимния мучнистая — <i>Hypogymnia farinacea</i> Zopf	–	1
Имшаугия бледнеющая — <i>Imshaugia aleurites</i> (Ach.) S.L.F. Meyer	4	1
Неофусцелия темно-буря — <i>Neofuscelia pulla</i> (Ach.) Essl.	3	исключен
Пармелиопсис темный — <i>Parmeliopsis hyperopta</i> (Ach.) Arnold.	4	2
Тукерманнопсис хлорофилловый — <i>Tuckermannopsis chlorophylla</i> (Willd.) Hale	–	3
Уснея густобородая — <i>Usnea dasypoga</i> (Ach.) Shirley	3	3
Уснея лапландская — <i>Usnea lapponica</i> Vain.	3	1
Уснея почти цветущая — <i>Usnea subfloridana</i> Stirt.	4	3
Ксантопармелия Делиса — <i>Xanthoparmelia delisei</i> (Duby) O. Blanco et al.	–	3
Семейство Ramalinaceae — Рамалиновые		
Рамалина разорванная — <i>Ramalina dilacerata</i> (Hoffm.) Hoffm.	–	1
Рамалина ясенева — <i>Ramalina fraxinea</i> (L.) Ach.	4	3
Рамалина пыльцеватая — <i>Ramalina pollinaria</i> (Westr.) Ach.	–	1
Порядок Peltigerales — Пельтигеревые		
Семейство Collemataceae — Коллемовые		
Бленноталлия курчавая [Коллема курчавая] — <i>Blennothallia crispa</i> (Weber ex F.H. Wigg.) Otálora, P.M. Jørg. et Wedin [<i>Collema crispum</i> (Huds.) Weber ex F.H. Wigg.]	3	1
Энхилиум топяной — <i>Enchylium limosum</i> (Ach.) Otálora, P.M. Jørg. et Wedin	–	3
Лептогиум синеватый — <i>Leptogium cyanescens</i> (Rabh.) Körb.	3	2
Семейство Peltigeraceae — Пельтигеревые		
Пельтигера тонкая — <i>Peltigera extenuata</i> (Vain.) Lojka	4	3
Пельтигера чешуеносная — <i>Peltigera lepidophora</i> (Vain.) Bitter.	4	3
Пельтигера Некера — <i>Peltigera neckeri</i> Hepp ex Mull. Arg.	4	1
Пельтигера новомногопалая — <i>Peltigera neopolydactyla</i> Gyeln.	3	1
Пельтигера многопалая — <i>Peltigera polydactylon</i> (Neck.) Hoffm.	–	1

Таким образом, список лишайников, рекомендуемых к занесению в новое издание Красной книги Рязанской области, включает 36 видов, 19 из которых уже имеют статус охраняемых [1], 2 вида перенесены из мониторингового списка в «основной», 15 видов предложены к охране впервые. Список нуждающихся в контроле и наблюдении видов (мониторинговый) также пополнен, теперь он включает 13 видов лишайников.

Благодарности. Авторы благодарны Л.Ф. Волосновой (Окский государственный природный биосферный заповедник) за сбор лихенологической коллекции; к.б.н. Л.А. Конорева, Д.Е. Гимельбранту, И.Н. Урбанавичене (Ботанический институт им. В.Л. Комарова (БИИ) РАН) и V. D. Otte (Senckenberg Museum of Natural History Görlitz, Germany) за помощь в определении и ревизии образцов сложных таксонов, всему кол-

лективу Лаборатории лихенологии и бриологии БИИ РАН за предоставленную возможность работы в гербарии LE-L.

Список литературы

1. Красная книга Рязанской области: официальное научное издание / Отв. редакторы В.П. Иванчев, М.В. Казакова. Изд. 2-е, перераб. и дополн. Рязань: НП «Голос губернии», 2011: 626 с.
2. Волоснова Л.Ф. Флора Окского заповедника (сосудистые растения, мхи, грибы, лишайники). Труды Окского государственного природного биосферного заповедника. Вып. 30. Рязань: НП «Голос губернии», 2014: 216 с.
3. Мучник Е.Э., Конорева Л.А., Казакова М.В., Соболев Н.А. Лихенобиота национальных парков «Мещера» (Владимирская область, Россия) и «Мещерский» (Рязанская область, Россия). Nature

- Conservation Research. Заповедная наука 2019. 4(1):64–82. <https://dx.doi.org/10.24189/ncr.2019.005>.
4. Мучник Е.Э. Лихенобиота. Исследования территории проектируемого музея-заповедника «Родина П.П. Семенова-Тян-Шанского» / Д. С. Климов [и др.]. Липецк, 2018: 103–128.
5. Santesson's Checklist of Fennoscandian Lichen-forming and Lichenicolous Fungi/ A. Nordin, R. Moberg, T. Tønsberg et al. Version 29. April 2011. Electronic data. The mode of access: <http://130.238.83.220/santesson/home.php> (accessed: 26.02.2020).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛИШАЙНИКОВ НА ГОРОДСКОЙ ЧАСТИ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ»

Пчелкин А.В.

Институт географии РАН, Москва

Флора лишайников Яузского и Лосиноостровского лесничеств Государственного национального природного парка «Лосиный остров» отличается сравнительно большим видовым разнообразием и по данным обследования насчитывает 79 видов для Яузского лесопарка, 66 для Лосиноостровского, а всего, с учетом литературных данных, 102 вида. Наибольшее видовое богатство приходится на р. *Cladonia* (15 видов), *Lecanora* (8 видов), *Peltigera* (4 вида), *Physcia* (4 вида) При этом не учитывалось внутривидовое разнообразие, а при дальнейших исследованиях список будет увеличиваться. Такое видовое богатство обеспечивается, с одной стороны, разнообразием биоценозов, наличием открытых пространств, отдельно стоящих деревьев, большим количеством водоемов, создающих благоприятные для лишайников микроклиматические условия, с другой стороны умеренным по сравнению с другими районами города, загрязнением, которое хотя и «выбивает» наиболее чувствительные виды лишайников, но и позволяет развиваться видам, устойчивым к загрязнению. Разнообразный спектр растений-форофитов с оптимальной для эпифитных лишайников структурой коры и умеренно кислой или нейтральной реакцией, таких как дуб, липа, старые березы, также благоприятствует развитию лишайнофлоры. В пределах городской территории обнаружены виды (*Chaenotheca furfuracea*, *Lecanora pulicaris*, *Peltigera didactyla*), считавшиеся вымершими для территории Москвы. В Национальном парке «Лосиный остров» отмечены виды лишайников, являющиеся индикаторами относительно малонарушенных старовозрастных лесов — это, прежде всего, представители порошкоплодных лишайников: *Calicium abietinum*, *Chaenotheca furfuracea*, *Chaenotheca ferruginea*. Из них *Chaenotheca furfuracea* считался вымершим на территории Москвы (в пределах МКАД); талломы с плодовыми телами этого вида обнаружены в Яузском лесничестве, в квартале № 49, возле Абрамцевской просеки, отмечены также стерильные талломы. Чаше других встречается *Chaenotheca ferruginea*, наиболее крупное по числу талломов — массив старых сосен возле Бумажной просеки в Лосиноостровском лесопарке, причем в этой точке отмечены талломы с плодоношением. Среди краснокнижных видов лишайников, произрастающих в Лосином Острове, преобладают индикаторы редких для Москвы биотопов — хорошо прогреваемых солнцем песчаных участков с редким травостоем, крупных лес-

ных массивов с валежником, малопосещаемые места и др.

Токсикофобные, чувствительные к загрязнению воздуха, кустистые эпифитные лишайники — *Evernia prunastri*, *Evernia mesomorpha*, *Usnea hirta*, *Bryoria fuscescens* отмечены единичными находками, все они включены в Красную Книгу г. Москвы. Из них два последних вида во время инвентаризации, проведенной осенью 2019 года не были обнаружены — деревья, на которых произрастали *Usnea hirta*, *Bryoria fuscescens* (квартал 53 Яузского лесничества) были срублены во время лесоустроительных работ при расчистке линии электропередачи. Тем не менее, считать эти виды вымершими на территории Национального парка, преждевременно: — при дальнейшей инвентаризации обнаружение талломов такого вида, как *Usnea hirta* вполне возможно в наиболее благоприятных экологических условиях (по субстрату, увлажнению, инсоляции). Для оценки возможности восстановления редких видов, в мае 2019 г. нами были заложены 2 трансплантационные площадки с *Evernia prunastri*, *Bryoria fuscescens*.

Виды, включенные в Красную Книгу г. Москвы, в Национальном парке произрастают рассеянно в различных кварталах. Ряд эпинежных видов (*Peltigera rufescens*, *Cladonia botrytes*, *Cladonia cariosa*) произрастает в, казалось бы, совершенно неблагоприятных условиях, — вблизи МЦК. Их произрастание в этих точках объясняется наличием участков со слабо развитым травяным покровом (основным экологическим конкурентом эпигейных лишайников) и относительно слабой рекреационной нагрузкой на почву (вытаптыванием). Интересен участок в квартале №37 Яузского лесничества — на песчаных участках в этом районе («треугольник» между ж/д) найдено несколько талломов *Peltigera rufescens* и другого представителя сем. *Peltigeraceae* — *Peltigera didactyla*. Мелколистоватый эпифитный лишайник *Parmeliopsis ambigua* (Красная Книга Москвы) отмечен единичной находкой на березе в Лосиноостровском лесничестве (1991 г.) и упоминается также Л.Г. Бязровым (2007). Другой малозаметный вид — *Hypogymnia tubulosa* также отмечен единичными находками в Яузском и Лосиноостровском лесопарках.

Эпифитный накипный вид *Graphis scripta* отмечен единичными находками на гладкой коре листовых пород как в Яузском, так и Лосиноостровском лесничестве.

Кустистый эпигейный лишайник *Cladonia furcata* обнаружен на почве под ЛЭП (1997). Другая точка обнаружения вида (1997) в «треугольнике» между ж/д в Яузском лесничестве (кв. 37) — во время инвентаризации 2019 г. вид не был обнаружен: в этом месте видны следы работ, сопровождавшихся выемкой грунта. Очевидно, во время этих работ талломы *Cladonia furcata* были уничтожены. Среди кустистых эпифитных видов из Красной Книги г. Москвы на территории Лосино-Острова наиболее часто встречается *Evernia prunastri*. Другие виды (*Evernia mesomorpha*, *Usnea hirta*, *Bryoria fuscescens*) отмечены единичными находками. Из них *Bryoria fuscescens* наиболее чувствителен к загрязнению атмосферы и, поскольку дерево, на котором этот лишайник произрастал, было вырублено при расчистке участка ЛЭП, существует вероятность, что этот вид на территории Лосино-Острова больше не произрастает.

По литературным данным, на территории Лосино-Острова произрастали и некоторые другие виды из Красных книг различного ранга. Так, *Cetraria islandica*, включенная в Красную Книгу Москвы, и сейчас произрастает в пределах МКАД (Щукинский полуостров, природный парк «Москворецкий») и существует некоторая вероятность обнаружения этого вида в благоприятных условиях (песчаная почва со слабым или отсутствующим травяным покровом, слабой рекреационной нагрузкой и относительно мало-загрязненной почвой и атмосферой). Эпифитный вид *Lobaria pulmonaria* произрастал на территории Лосино-Острова в начале XX века. Этот широколопастной эпифитный лишайник включен в Красную Книгу Московской области и был ранее включен в Красную Книгу России. Однако этот вид, приуроченный к старовозрастным лесам, весьма чувствителен к загрязнению воздуха и обнаружение его на территории

Лосино-Острова в настоящее время маловероятно. Эпифитный лишайник *Anaptychia ciliaris*, произраставший на территории Лосино-Острова в начале XX века, включен в Красную Книгу Московской области. Этот вид тоже относительно чувствителен к загрязнению воздуха и хотя он не был обнаружен во время инвентаризационных исследований, есть некоторая вероятность его находки в наиболее удаленных от городских кварталов участках национального парка. Эпигейный кустистый лишайник *Stereocaulon tomentosum*, отмеченный для территории Лосино-Острова в начале XX века, включен в Красную Книгу Московской области. Существует небольшая вероятность его обнаружения в Лосином Острове и сейчас, т. к. в Московской области этот вид встречается также и вблизи городов (г. Ликино-Дулево, Орехово-Зуевский район). Из-за фонового и локального воздействия поллютантов естественно произрастание на территории Лосино-Острова нитрофильных, токситолерантных видов: *Athallia pyracea*, *Myriolecis hagenii*, *Phaeophyscia orbicularis*, *Physcia adscendens*, *Physcia stellaris*, *Parmelia sulcata*, *Xanthoria parietina*, *Scoliciosporum sarothamni* и др.

Трансплантационные работы выполнены в рамках темы НИР по Плану Фундаментальных научных исследований государственных академий наук № 0148–2019–0009, ААА-А-19–119022190173–2 «Изменения климата и их последствия для окружающей среды и жизнедеятельности населения на территории России».

Инвентаризационные исследования в 2019 г. выполнены по договору с ФГБУ «Национальный парк «Лосиный остров» № 109/19р от 06.11.2019 г.

ЛИШАЙНИКИ МАЛОНАРУШЕННЫХ ЛЕСОВ ВЕРХОВИЙ РЕКИ НЮХЧА (ПИНЕЖСКИЙ РАЙОН, АРХАНГЕЛЬСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Тарасова В.Н.

Петрозаводский государственный университет, Республика Карелия

Лишайники Архангельской области в настоящее время остаются крайне слабо изученными по сравнению с другими регионами России. Для данной территории, занимающей площадь более 587 тыс. км², отсутствует общий список видов лишайников и близких к ним грибов; до настоящего времени существовала большая проблема в разработке соответствующего раздела в составе региональной Красной книги. Так, например, в предыдущем издании Красной книги Архангельской области (2008) указывается всего 10 видов лишайников (для сравнения, в Мурманской области (2014) — 84, Республике Карелия (2007) — 77 видов, в Республике Коми (2019) — 85). Вместе с тем обширная территория Архангельской области, включающая в себя равнинные участки северной и средней тайги с

относительно высоким процентом малонарушенных лесов, морское побережье, выходы известняковых отложений на поверхность, а также большую территорию островов в Арктике, предполагает развитие довольно богатой лишайнофлоры.

Лишайники являются неотъемлемым компонентом большинства наземных экосистем, чутко реагируют на возмущения природной среды и могут являться индикаторами малонарушенных местообитаний.

Целью настоящего исследования является изучение видового разнообразия лишайников в растительных сообществах, произрастающих в верховьях реки Нюхча в Пинежском районе Архангельской области, для обоснования расширения комплексного заказника регионального значения «Пучкомский».

В работе анализируются данные, собранные во время экспедиции, организованной Архангельским отделением Всемирного фонда дикой природы (WWF), которая состоялась 17–25 июня 2019 г.

Обследование производилось маршрутным методом на основе заложения и описания пробных площадей. Маршруты разрабатывались по космоснимкам и картам лесонасаждений таким образом, чтобы максимально охватить все разнообразие биотопов и растительных сообществ в районе изучения. Для каждой пробной площади (25 × 25 м) фиксировали: географическое положение, координаты GPS, высоту над уровнем моря, тип сообщества, сомкнутость крон (%), относительную сумму поперечных сечений стволов древостоя и валяжа ($\text{м}^2\text{га}^{-1}$) с учетом породного состава, доминантные виды напочвенного покрова, таксационные параметры древостоя (возраст, высота, диаметр ствола), особенности динамики древостоя и приблизительную давность нарушения (по возможности). На каждой пробной площади фиксировали наличие всех типов потенциальных субстратов лишайников и сплошным методом выявляли полное видовое разнообразие лишайников на них. Виды, требующие камерального определения, отбирались в пакеты, которые снабжались этикеткой.

На территории района исследования господствуют еловые (*Picea abies* × *P. obovata*) черничные, болотно-травяные типы леса и болота. В поймах рек и ручьев встречаются ельники приручейные и пойменные. Большинство изученных сообществ имеют высокую давность нарушения, в них отсутствуют видимые следы рубок и пожаров.

Всего выполнено 26 описаний сообществ в следующих типах: ельники черничные зеленомошные (6); ельник черничный долгомошно-сфагновый (1); ельник черничный сфагновый (1); ельники болотно-травяные (4); ельники приручейные разнотравные (2); ельники болотно-травяные пойменные (7); ельники болотно-травяные припойменные (2); сфагновые болота с березой, елью и (или) сосной (2); пустошь на месте свежей вырубki (1).

Определение видов выполнено в лаборатории кафедры ботаники и физиологии растений ПетрГУ согласно общепринятой в лихенологии методике. В ходе исследования было собрано свыше 2000 образцов лишайников. Коллекция хранится в гербарии ПетрГУ (PZV).

В ходе предварительного анализа гербарных коллекций выявлено 194 вида и 1 подвид лишайников и близких к ним грибов, произрастающих на территории исследования. Среди выявленных видов 11 являются новыми для Архангельской области.

Виды *Lobaria pulmonaria* и *Bryoria fremontii* включены в Красную книгу Российской Федерации (2008); 16 видов (*Acolium karelicum*, *Bryoria fremontii*, *Chaenotheca brachypoda*, *Ch. gracilentata*, *Ch. gracillima*, *Ch. phaeocephala*, *Ch. sphaerocephala*, *Leptogium cyanescens*, *Lobaria pulmonaria*, *L. scrobiculata*, *Nephroma helveticum*, *Peltigera elisabethae*, *P. lepidophora*, *P. venosa*, *Ramalina thrausta*, *Usnea longissima*) — в Красную книгу Архангельской области (2020).

Среди обнаруженных лишайников и близких к ним грибов 31 вид является индикаторами биологически ценных лесов. Необходимо отметить, что существую-

щая в настоящее время единственная работа в России по выявлению степени биологической ценности лесов на основе концепции индикаторных видов, разработана только для территории Северо-запада Европейской части России (Выявление и обследование..., 2009), исключая территорию Архангельской области. Известно, что из-за особенностей биологии, экологии и географического распространения отдельных видов, в разных регионах индикаторная способность одних и тех же видов — индикаторов может существенно различаться. Однако относительная близость Архангельской области к западной части Европейского Севера России, наличие сходных природных условий позволяют предполагать, что общий список индикаторных видов, за некоторыми нюансами, будет совпадать с вышеобозначенным. В настоящее время в данной работе в качестве специализированных и индикаторных видов лишайников предложено 107 таксонов. Таким образом, на территории исследования обнаружено приблизительно 30% из этого числа.

Все изученные сообщества, за исключением двух — березово-осокового сфагнового болота и пустоши на месте вырубki, — характеризуются наличием охраняемых (ОВ) и индикаторных видов (ИВ). Общее количество данных видов составило 34. Из 16 видов, рекомендованных для внесения в Красную книгу АО (2020) и обнаруженных в месте исследования, к индикаторным относится 13. Число ОВ и ИВ видов на площади 0,06 га в различных сообществах варьирует от 0 до 16. Максимальное число зарегистрировано в ельнике болотно-травяном пойменном (16) и в ельнике черничном зеленомошном (15).

Как показал анализ данных, распределение отдельных ОВ и ИВ видов в изученных сообществах, за некоторым исключением, случайно. Вероятно, это вызвано следующими причинами:

- приблизительно одинаковой, большой давностью нарушения (>300 лет) большинства изученных сообществ;
- высоким общим уровнем относительной влажности воздуха в изученных сообществах елового ряда;
- наличием в большинстве сообществ разнообразных экологических ниш, обусловленных присутствием мертвой древесины на разных стадиях разложения и сложной видовой и возрастной структурой древостоя;
- вероятными факторами — случайным распределением диаспор видов при заселении территорий и наличием уникального для каждого сообщества комплекса условий местообитания лишайников (спектр субстратов, их состояние, количество и т. д.) в данный момент времени.

Однако, несмотря на этот факт, как показали результаты данной работы и предыдущие исследования (Тарасова, 2018), такая характеристика, как общее число ОВ и ИВ видов в сообществах, может быть чувствительным показателем, определяющим видовое богатство, и, соответственно, биологическую ценность различных типов биотопов.

Ельники болотно-травяные пойменные и припойменные характеризуются наибольшим общим числом ОВ и ИВ, оно составляет 7–15 видов на 0,06 га

площади. Здесь произрастает 11 из 16 обнаруженных в районе исследования видов, занесенных в Красную книгу АО. Только в данном типе сообществ обнаружены такие виды, как *Chaenotheca sphaerocephala*, *Leptogium cyanescens*, *Chaenothecopsis viridialba*, *Peltigera elisabethae*, *P. venosa*. Большой, по сравнению с другими биотопами, встречаемостью обладают виды *Acolium karelicum*, *Ramalina thrausta* и *Rostania occultata*. Неопределенно высокая давность последнего нарушения, особый микроклимат, характеризующийся повышенной относительной влажностью воздуха и разнообразным уровнем освещенности в разных участках фитоценоза, сложная структура древостоя, относительно большие размеры форофитов, а также наличие большого количества мертвой древесины на разных стадиях разложения создают предпосылки для формирования высокого разнообразия лишайников.

В **ельниках черничных зеленомошных** также отмечается повышенное число ОВ и ИВ: на 0,06 га в таких сообществах произрастает от 7 до 15 видов лишайников, относящихся к данным группам. Давность последнего катастрофического нарушения (пожара) в этих дренированных местообитаниях, по сравнению с другими, более увлажненными типами биотопов, относительно не высока и составляет ~ 150–250 лет. Однако высокие таксационные параметры деревьев, сложная структура древостоя, характеризующаяся наличием крупных, старых деревьев осины (*Populus tremula*), и большой запас сухостоя и валежа также способствуют развитию богатых лишайноценофлор, в том числе, с участием редких и охраняемых видов лишайников. При этом трудно выделить виды лишайников, характерные только для данного типа сообществ. Однако здесь, по сравнению с другими биотопами, большей встречаемостью обладают виды, основным субстратом для которых служит осина — это *Leptogium saturninum* и *Scytinium teretiusculum*.

В **ельниках болотно-травяных** на 0,06 га площади встречается от 7 до 12 видов ОВ и ИВ. Только здесь были обнаружены места произрастания видов *Peltigera lepidophora* и *Usnea longissima*. Большой, по сравнению с другими биотопами, встречаемостью обладают виды *Lopadium disciforme* и *Microcalicium dissmeninatatum*.

В двух изученных сообществах **ельников приручейных разнотравных** было обнаружено 6 и 8 видов ОВ и ИВ, соответственно. Характерные виды лишайников для данного типа биотопа выделить затруднительно, однако, можно отметить, что в обоих сообществах обнаружены находки *Microcalicium dissmeninatatum*, *Nephroma bellum*, *N. parile*, *Rostania occultata*.

Остальные биотопы — **ельник черничный сфагновый**, **ельник долгомошно-сфагновый** и **сфагновые болота** — отличаются низким разнообразием ОВ и ИВ

видов: на 0,06 га здесь произрастает от 0 до 4 видов, занесенных в Красную книгу АО, а также предложенных в качестве индикаторов ценных биотопов. Каких либо характерных видов, встречающихся только в данных типах биотопов, здесь не обнаружено. Вероятно, даже при большой давности нарушения, низкобонитетные насаждения с высоким уровнем инсоляции, простой структурой древостоя, с отсутствием (или с небольшим запасом) мертвой древесины являются факторами, ограничивающими формирование богатого видового разнообразия.

Таким образом, исследование лесного участка показало его крайне низкую степень нарушенности, в лесах наблюдается естественная динамика древостоя, в большинстве изученных сообществ отсутствуют следы пожаров и рубок, они обладают высоким разнообразием лишайников, включая редкие виды, подлежащие охране.

Список литературы

1. Красная книга Архангельской области. / Администрация Арханг. обл. [и др.; сост.: П.Н. Амосов, и др.; редкол.: ... А.П. Новоселов (отв. ред.) и др.]. Архангельск: Ком. по экологии Арханг. обл., 2008. 351 с.
2. Красная книга Мурманской области. Изд. 2-е, перераб. и доп. / Отв. ред. Н. А. Константинова, А. С. Корякин, О. А. Макарова, В. В. Бианки. Кемерово: «Азия-принт», 2014. 584 с.
3. Красная книга Республики Карелия. / Сост. А. В. Артемьев и др. Петрозаводск: «Карелия», 2007. 368 с.
4. Красная книга Республики Коми: Третье издание, официальное / Под общей редакцией С. В. Дегтевой. Сыктывкар, 2019. 768 с.
5. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Министерство природных ресурсов и экологии РФ; Федеральная служба по надзору в сфере природопользования; РАН; Российское ботаническое общество; МГУ им. М. В. Ломоносова. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 885 с.
6. Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России. Том 2. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов / Отв. Ред. Л. Андерссон, Н.М. Алексеева, Е.С. Кузнецова. СПб., 2009. 258 с.
7. Тарасова В. Н. Видовое разнообразие лишайников в среднетаежных ельниках зеленомошных с разной давностью нарушения (Республика Карелия) // Труды X международной конференции «Проблемы лесной фитопатологии и микологии» (г. Петрозаводск, 15–19 октября 2018 г.). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2018. С. 201–203.

ЛИШАЙНИКИ В СТРУКТУРЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА ТОРФЯНЫХ ПОЧВАХ ПЛОСКОБУГРИСТЫХ БОЛОТ ТАЕЖНОЙ ЗОНЫ (ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ, ХМАО-ЮГРА)

Толпышева Т.Ю.¹, Шишконокова Е.А.²¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова²Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

Западная Сибирь относится к числу наиболее заболоченных территорий России. Здесь представлены разные типы болот (Лисс, Березина, 1981). Бугристые болота на территории Западно-Сибирской равнины распространены в тундре, лесотундре и в северной тайге, в отдельных районах они занимают до 60% территории (Усова, 1983). Плоскобугристые болота приурочены преимущественно к плоским пониженным водоразделам междуречий.

В ХМАО-Югре в подзоне северной тайги плоскобугристые болота расположены обычно на плакорных участках, занимая значительные площади преимущественно севернее водораздела Сибирских Увалов, в то время как южнее Увалов имеются лишь отдельные их вкрапления в болотные массивы других типов. Распространение мерзлоты носит мозаичный характер. Плоскобугристые болота имеют слабо выпуклую форму; высота бугров в среднем не превышает 1,0–1,5 м (Валева и др., 2008). Бугры имеют различную конфигурацию и размеры. На юге северотаежной зоны их размеры варьируют от 3 м до 20 м, но с продвижением на север бугры увеличиваются, достигая 80 м.

Древесный ярус обычно отсутствует. Изредка на отдельных буграх встречаются единичные экземпляры деревьев, главным образом *Pinus sylvestris* f. *litwinowii*. Их высота до 3–4 м, диаметр 3–6 см. На соснах отмечено 20 видов лишайников. *Hyrogymnia physodes* — фоновый вид на стволах, и на некоторых участках отдельных стволов сосен его проективное покрытие достигает 100%. На ветвях сосен видовой состав богаче. Некоторые ветви, особенно засохшие, бывают сплошь покрыты лишайниками. Из эпифитов, имеющих листоватый таллом, здесь обычно развиваются *H. physodes*, *Melanohalea olivacea*, *Vulpicida pinastri*, *Cetraria saepincola*, *Parmelia sulcata*. Из кустистых лишайников наиболее распространены *Evernia mesomorpha*, *Bryoria furcellatra*, *Usnea subfloridana*, из накипных — виды группы *Lecanora subfuscata*. Частота встречаемости большинства этих видов превышает 50%. Эти же виды имеют высокую частоту встречаемости на *Pinus sylvestris* f. *litwinowii* на олиготрофных болотах средней тайги (Толпышева, 2004).

Представители других накипных лишайников (например, *Artonia atra*, *Biatora helvola*) на соснах встречаются реже. Накипные лишайники обычно почти полностью скрыты под лопастями лишайников, имеющих листоватые талломы.

Растительный покров стабильных в мерзлотном отношении сегментов бугров представлен преимущественно олиготрофными кустарничково-зеленомошно-лишайниковыми сообществами. Понижения между буграми — кустарничково-сфагновыми сообществами.

Растительный покров кустарничкового яруса образован карликовой березкой (*Betula nana*), багульниковом (*Ledum palustre*), брусникой (*Vaccinium vitis-idaea*), го-

лубикой (*Vaccinium uliginosum*), водяникой (*Empetrum nigrum*), ближе к склонам и в микропонижениях — болотным миртом (*Chamaedaphne calyculata*), реже подбелом (*Andromeda polifolia*). Площадь проективного покрытия кустарничков на разных буграх обычно колеблется от 15 до 30%. На карликовой березке и на болотных кустарничках встречаются эпифитные лишайники. Однако, по сравнению с сосной, видовой состав лишайников здесь значительно беднее. Эпифитные лишайники, имеющие кустистый таллом, отсутствуют. На этот субстрат переходят только те виды эпифитных лишайников, которые могут выносить довольно длительное пребывание под снегом: *Vulpicida pinastri*, *Parmeliopsis ambigua*, *P. hyperopta*, *Cetraria sepincola*; реже здесь встречаются накипные лишайники: *Lecanora pulicaris*, *L. chlarotera*, *Biarora helvola*. На болотных кустарничках листоватые лишайники, и значительно реже накипные, растут даже при отсутствии на плоскобугристых болотах сосен. Отмечалось, что *P. ambigua* и *V. pinastri* встречаются на карликовых кустарничках также в арктических и высокогорных районах (Ahti et al., 2011; Thell et al., 2011).

Таким образом, при отсутствии деревьев, болотные кустарнички способствуют продвижению эпифитных лишайников на север, в том числе в тундровую зону Голарктики, а также в высокогорья.

Площадь покрытия эпигейных лишайников в составе мохово-лишайникового яруса плоскобугристых болот составляет до 70–90%. Обычно площадь, занятая лишайниками, значительно больше площади распространения мхов. В некоторых местах лишайники нарушены в результате выпаса оленей.

Поскольку верхняя часть почвенного профиля верхних торфяных мерзлотных почв, слагающих плоские бугры, имеет кислую реакцию (рН 4,0–4,5), то на этом субстрате развиваются преимущественно ацидофильные виды лишайников. В северотаежной зоне на плоскобугристых болотах ХМАО-ЮГРА зарегистрировано 42 вида эпигейных лишайников.

Среди лишайникового покрова преобладают бореальные виды, имеющие кустистый таллом. Доминантами являются *Cladonia rangiferina* и *C. stellaris*. Эти лишайники могут образовывать, как чистые заросли (состоящие из одного вида), так и встречаться совместно с другими видами лишайников и с зелеными мхами. Чаще всего из мхов это *Pleurozium schreberi*. Однако, *C. rangiferina* распространен на болотах шире и встречается чаще, чем *C. stellaris*. Частота встречаемости *C. rangiferina* в мохово-лишайниковом ярусе на плоскобугристых болотах 100%.

Содоминантами могут выступать *Cladonia amaurocraea*, *C. arbuscula*, *C. gracilis*, *C. crispata*, *Cetraria islandica*. Листоватые лишайники на плоскобугристых болотах в данном регионе не зарегистрированы. Из накипных лишайников на торфе изредка встречается *Icmadophyla ericetorum*.

С продвижением на север среди лишайникового покрова увеличивается доля арктовысокогорных видов. В первую очередь это представители сем. Parmeliaceae: *Alectoria ochroleuca*, *Flavocetraria cucullata*, *F. nivalis*. На плоскобугристых болотах, расположенных в южной части северной тайги, эти виды либо отсутствуют, либо встречаются среди других видов лишайников. На севере они уже образуют чистые куртины, которые по мере продвижения на север увеличиваются.

На вершинах и склонах бугров встречаются пятна торфа, лишенные растительности. Процесс образования этих пятен на участках без мерзлоты и на мерзлотных участках может различаться. На участках, где имеется вечная мерзлота, в результате потепления климата может проявляться термокарстовый процесс. В отличие от крупнобугристых болот на плоскобугристых болотах таяние мерзлоты происходит быстрее. При таянии мерзлоты происходит «оседание» сегмента бугра, под которым находилась мерзлота, что влечет за собой формирование кочковатого рельефа. На вершинах и пологих склонах этот процесс идет медленнее, чем на более крутых склонах.

Первыми на этот процесс реагируют лишайники. Лишайниковый покров на таких участках растрескивается. На вершинах более высоких склонов бугров образуются трещины, расширяющиеся в результате попадания в них талой воды, которая то замерзает, то оттаивает, что, в свою очередь, приводит к образованию пятен денудации. Особенно активно этот процесс идет на склонах южной экспозиции (Шишконокова и др., 2019). Из лишайников быстрее погибают представители р. *Cladonia*, у которых отсутствует коровой слой. Расширение трещин, гибель лишайников, оголение корней кустарничков, приводящее к их гибели — все это способствует увеличению площади пятна. На хорошо дренированных участках, при небольшой просадке сегмента процесс деградации растительного покрова может замедляться или прекращаться, и пятно денудации вновь зарастает.

Пионерами на пятнах обнаженного торфа являются лишайники р. *Cladonia*. Зарастание торфяного пятна начинается от его краев, которые нередко обрамлены лишайниками. Несмотря на то, что вокруг такого пятна часто растут виды р. *Cladonia* подрода *Cladina*, они очень редко заселяют оголенный торф. Как правило, первыми на оголенный торф переходят виды р. *Cladonia*, имеющие сцифоидные и палочковидные подвиды. Среди них преобладают соредиезные виды, та-

кие как *C. cenotea*, *C. deformis*, *C. chlorophaea*, *C. cornuta*. Возможно, соредии, легко переносимые ветром, способствует более быстрому освоению субстрата именно этими видами лишайниками. Наблюдается и зарастание торфяных пятен *Cladonia rangiferina* и *C. stellaris*, и некоторыми другими лишайниками р. *Cladonia*, у которых отсутствует коровой слой, а также *C. amaurocrea*, но это встречается реже.

На участках болот, где отсутствует мерзлота, образование пятен оголенного торфа связано с различиями в скорости роста мхов и лишайников. Годовой прирост мхов выше, годового прироста лишайников. Например, на болотах прирост *Pleurozium schreberi* составляет от 15 мм до 27 мм, в то время как прирост *Cladonia rangiferina* всего 6–8 мм, а *C. arbuscula* от 3 мм до 6 мм. Быстрорастущие мхи обгоняют медленно растущие лишайники, и постепенно лишайники оказываются в микропонижениях, в которых может скапливаться вода. Длительное пребывание в воде, даже если в нее погружен не весь таллом, а только его основание, лишайники не выдерживают и погибают. Из-за отсутствия корового слоя первыми вымокают виды р. *Cladonia* подрода *Cladina*.

Список литературы

1. Лисс О.Л., Березина Н.А. Болота Западно-Сибирской равнины. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981.
2. Усова Л.И. Бугристые болота северной тайги Западно-Сибирской равнины // Труды ГГИ. 1983. Вып. 303. С. 3–11
3. Валеева Э.И., Московченко Д.В., Арефьев С.П. Природный комплекс парка «Нумто», Новосибирск, 2008.
4. Толпышева Т.Ю. Элементы структуры сообществ эпифитных лишайников олиготрофных болот Среднего Приобья (Западная Сибирь) // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2004. № 4. С. 42–46.
5. Ahti T., Moberg R., Thell A. 2011. Parmeliopsis — in A. Thell, R. Moberg (eds.), Nordic Lichen Flora Vol. 4. P. 92–94.
6. Thell A., Ahti T., Randlane T. 2011. Vulpicida — in A. Thell, R. Moberg (eds.), Nordic Lichen Flora Vol. 4. P. 128–130.
7. Шишконокова Е.А., Аветов Н.А., Толпышева Т.Ю., Тарлинская А.А. Растительная индикация термокарстовых образований бугристых болот в южной части парка Нумто (Западная Сибирь) // Социально-экологические технологии. 2019. № 1, С. 27–57.

Глава 7.

Взаимоотношения грибов, бактерий и растений. Микориза

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.07

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАНТАРЕЛЛОВЫХ ГРИБОВ (ПОРЯДОК *CANTHARELLALES*)

Бондарцева М.А., Змитрович И.В.

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

Как правило, наиболее активно изучаются представители биосферы, оказывающие заметное влияние на существование человека. Применительно к грибному царству это в основном съедобные и лекарственные грибы, возбудители болезней культурных и полезных дикорастущих растений, а также животных и человека. Однако грибы составляют существенную часть биосферы. Сфера влияния многих групп ограничена определенными условиями обитания, прежде всего, типом субстрата (древесина, цветы, стебли, листья растений, микориза и т. д.). Группа кантарелловых грибов (порядок *Cantharellales*) является одной из наиболее экологически лабильных, ее представители способны осваивать самые разнообразные субстраты и типы местообитаний.

Род *Cantharellus*, давший название порядку, был описан французским ботаником Жюрье в 1789 г. [1], а в качестве типового рода нового порядка *Cantharellales* был признан в начале двадцатого века [2]. Поскольку с течением времени изменялись подходы к выбору признаков, определяющих систематическое положение таксонов, изменялось и их положение в системе. Так, в разные периоды в состав порядка *Cantharellales* включались семейства *Clavariaceae*, *Physalacriaceae*, *Pterulaceae*, *Typhulaceae* (в настоящее время рассматриваются в составе порядка *Agaricales*), *Clavariadelphaceae* (*Gomphales*), *Sparassidaceae* (*Polyporales*), *Albatrellaceae* (*Russulales*). Собственно кантарелловые грибы (бывшее семейство *Cantharellaceae*) сейчас входят в состав семейства *Hydnaceae*.

Использование в таксономических целях филогенетически значимых маркерных последовательностей ДНК [3–5], позволило, во-первых, уточнить объем порядка *Cantharellales* и подтвердить его таксономический ранг, а во-вторых — выявить основные филогенетические линии этого порядка, соответствующие рангу семейства: *Aphelariaceae* (*Aphelaria*, *Phaeoaphelaria*); *Botryobasidiaceae* (*Botryobasidium* с анаморфами, *Suillosporium*); *Ceratobasidiaceae* (*Ceratobasidium*, *Ceratorhiza*, *Rhizoctonia*, *Scotomyces*, *Thanatephorus*); *Hydnaceae* (*Burgoa*, *Burgella*, *Cantharellus*, *Clavulina*, *Corallofungus*, *Craterellus*, *Gloeomicro*, *Heteroacanthella*, *Hydnum*, *Ingoldiella*, *Membranomyces*, *Multiclavula*, *Neoburgoa*, *Parastereopsis*, *Rogersiomyces*, *Sistotrema*); *Oliveoniaceae* (*Oliveonia*); *Tulasnellaceae* (*Pseudotulasnella*, *Tulasnella*). Положение родов *Bulbilla*, *Minimedusa*, *Schildia*, *Stilbotulasnella* в системе *Cantharellales* требует уточнения. В современной системе к порядку *Cantharellales* относятся

около 550 видов из 33 родов и 6 семейств. Для представителей этой группы характерны неперфорированные или нерегулярно перфорированные парентосомы [6], стихические базидии у большинства родов, также известные только в классе *Dacrymycetes* [7], «анцестральная мягкая гниль» древесины [8], вызываемая ксилобионтными видами. Положение порядка на молекулярном древе класса *Agaricomycetes* свидетельствует о том, что группа обособилась после расхождения предковых форм *Dacrymycetes* и *Agaricomycetes* [5]. Отсутствие вторичной склерификации у гиф воздушного мицелия ограничивает набор морфотипов базидиом у кантарелловых грибов.

Базидиомы у большинства представителей порядка распростертые, гипохноидного типа: *Botryobasidium*, *Suillosporium*, *Ceratobasidium*, *Ceratorhiza*, *Rhizoctonia*, *Scotomyces*, *Thanatephorus*, *Heteroacanthella*, *Repetobasidiellum*, *Rogersiomyces*, отдельные виды рода *Sistotrema*, *Oliveonia*, *Pseudotulasnella*, *Tulasnella*. Некоторые гипохноидные кантарелловые виды способны формировать поверх мицелиального войлока макроскопические пропагулы плотной текстуры — бульбиллы (роды *Burgoa*, *Burgella*, *Neoburgella*). Виды рода *Ingoldiella* из мелких лесных водоемов представлены своеобразной водной экоморфой, с многоклеточными нитевидными пропагулами бесполого размножения. Другие морфотипы с распростертыми по субстрату базидиомами, — кортициоидный (*Membranomyces*, *Sistotrema* spp.), одонтиоидный, грандиниоидный, радулоидный или пориоидный (*Sistotrema* spp.) представлены не столь широко. Из ортотропных морфотипов у представителей порядка встречаются: клавириоидный, в виде напочвенных булавовидных или цилиндрических одиночных базидиом (*Clavulina* и *Multiclavula*); рамариоидный, с разветвленными базидиомами (у части видов рода *Clavulina*, в родах *Corallofungus*, а также *Aphelaria* и *Paraphelaria*. Мукронеллоидный морфотип, в виде мелких, множественных клавириоидных базидиом, развивающихся поверх древесного субстрата свойствен роду *Gloeomicro*. Кантателлоидный морфотип, с воронковидными базидиомами и радиально-морщинистым, складчатым до почти пластинчатого гименофором свойствен родам *Cantharellus*, *Craterellus* и *Parastereopsis*. Гидноидный морфотип, характеризующийся шиповидным гименофором, свойствен роду *Hydnum* s. str. Вид *Sistotrema confluens* отличается пластичными базидио-

мами, часто с редуцированной ножкой и воронковидной, либо шпательевидной шляпкой и гидноидным до ирпикоидного гименофором.

Трофические связи кантарелловых грибов разнообразны. Представители семейства *Botryobasidiaceae* заселяют валежную древесину, древесный детрит и лесную подстилку, вызывая белую гниль с очень слабой лакказной активностью [9]. Цератобазидиевые грибы (*Ceratobasidiaceae*) сочетают сапротрофную, биотрофную и симбиотрофную (орхидная микориза) трофические стратегии. Анаморфный род *Rhizoctonia* включает ряд фитопатогенных видов. Сходные тенденции наблюдаются у представителей семейства *Tulasnellaceae*. Представители семейства *Aphelariaceae* – гумусовые сапротрофы, способные к формированию эктомикоризы. Такие же трофические особенности свойственны напочвенным грибам *Hydnaceae* (роды *Cantharellus*, *Clavulina*, *Corallofungus*, *Craterellus*, *Hydnum*). Для рода *Multiclavula* характерна колонизация грибом пленок аэрофитных водорослей с образованием примитивного базидиолишайника. Грибы родов *Burgella*, *Heteroacanthella*, *Neoburgoa* являются лишенофилами.

Таким образом, представители семейства демонстрируют большое разнообразие как морфологических, так и физиологических адаптаций, позволяющих им осваивать разнообразные экологические ниши. В эволюции порядка *Cantharellales* и других крупных групп агарикомицетов наблюдается параллелизм, связанный с освоением грибами сходных адаптивных зон, открывшихся в связи с ранне-меловой диверсификацией наземной биоты: колонизации древесного детрита с образованием гипохноидных, кортициоидных и вторичных резупинатных форм, лесной подстилки с образованием кантареллоидных, клавариоидных и рамариоидных форм, развитием спороношений среди травостоев с редукцией кантареллоидных и вторичным образованием клавариоидных форм, формирование лигнотрофными грибами эктомикориз, эрикоидной микоризы, колонизация протонем мхов, пленок аэрофитных водорослей, слоевищ лишайников.

Использование данных молекулярной систематики существенно стабилизировало макросистему кантарелловых грибов, но в систематике этой группы до сих пор остается нерешенным целый ряд проблем.

Прежде всего, очевидной является гетерогенность рода *Sistotrema*, который распадается минимум на 4 независимые клады: 1) сестринская роду *Hydnum* клада, включающая типовой вид *S. confluens*, а также *S. alboluteum* и *S. muscicola*; 2) независимая и пока никак не названная клада *S. radulooides*; 3) клада, включающая *S. oblongisporum*, *S. brinkmannii*, *S. resinicystidium*, внутри которой располагается род проблематического телеоморфного статуса *Rogersiomyces* [10] и это название, по-видимому, в будущем закрепится за филородом; 4) клада, включающая *S. eximum*, *S. efibulatum*, *S. octosporum*, *S. sernanderi*, *Urnobasidium* [11]. Неблагополучной остается ситуация с морфологическим ограничением филогенетических видов в родах *Hydnum*, *Cantharellus*, *Craterellus* [12–14]. Требуют номенклатурной ревизии род *Botryobasidium* и ассоциированные с ним анаморфные роды. Также необходим специальный анализ *Burgoa*-подобных анаморфных таксонов.

Наличие мейоза в «базидиях» *Rogersiomyces* требует специального доказательства с выявлением синаптоне-

мальных комплексов. Интерес представляет природа инсерции в ITS-области целого ряда таксонов кантарелловых грибов, затрудняющая выравнивание нуклеотидных последовательностей и ITS-стрихкодирование [15].

Список литературы

- Jussieu A.L. Genera plantarum secundum ordines naturales disposita. Paris, 1789. 198 p.
- Gäumann E.A. Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena: Gustav Fischer, 1826. 626 p.
- Moncalvo J.-M., Nilsson R.H., Koster B., Dunham S.M., Bernauer T., Matheny P.B. et al. The cantharelloid clade: dealing with incongruent gene trees and phylogenetic reconstruction methods. *Mycologia* // 2006. Vol. 98 (6). P. 937–948.
- Hibbett D.S., Bauer R., Binder M., Giachini A.J., Hosaka K., Justo A., etc. In: The Mycota. Systematics and evolution. Part A. VII. 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, 2014. 471 p.
- He M.-Q., Zhao R.-L., Hyde K.D., Begerow D., Kehler M., Yurkov A., McKenzie E.H.C., etc. Notes, outline and divergence times of Basidiomycota // *Fungal Diversity*. 2019. Vol. 59. P. 1–263.
- Zmitrovich I.V., Wasser S.P. Modern view on the origin and phylogenetics reconstruction of Homobasidiomycetes fungi // Wasser S.P. (ed.) *Evolutionary theory and processes: Modern Horizons*. Dordrecht, Boston, L.: Kluwer Academic Publishers, 2004. P. 230–263.
- Бондарцева М.А., Змитрович И.В. Род *Sistotrema* (Cantharellales, Hydnaceae) России // *Микология и фитопатология*. 2020. Т. 54, № 1. С. 3–15.
- Nagy L.G., Riley R., Tritt A., Adam C., Daum Ch., Floudas D. et al. Comparative genomics of early-diverging mushroom-forming fungi provides insights into the origins of lignocellulose decay capabilities // *Mol. Biol. Evol.* 2015. V. 33 (4). P. 959–970.
- Бондарцева М.А., Змитрович И.В. Род *Botryobasidium* Donk (Cantharellales, Botryobasidiaceae) в России // *Микология и фитопатология*. 2018. Т. 52, № 4. С. 231–242.
- Psurtseva N.V., Zmitrovich I.V., Malysheva V.F. Taxonomy and developmental morphology of *Rogersiomyces malaysianus* comb. nov. (Cantharellales, Agaricomycetes) // *Botany*. 2016. V. 94. P. 579–592.
- Parmasto E. *Conspectus systematis Corticiacearum*. Inst. Zool. Bot., Tartu, 1968. 261 p.
- Dahlman M., Danell E., Spatafora J. W. Molecular systematics of *Craterellus*: cladistic analysis of nuclear LSU rDNA sequence data // *Mycol. Res.* 2000. V. 104, N 4. P. 388–394.
- Foltz M.J., Perez K.E., Volk T.J. Molecular phylogeny and morphology reveal three new species of *Cantharellus* within 20 m of one another in western Wisconsin, USA // *Mycologia*. 2013. V. 105, N 2. P. 447–461.
- Swenie R.A., Baroni T.J., Matheny P.B. Six new species and reports of *Hydnum* (Cantharellales) from eastern North America // *MycKeys*. 2018. Vol. 42. P. 35–72.
- Nilsson R.H., Kristiansson E., Ryberg M., Hallenberg N., Larsson K.-H. Intraspecific ITS variability in the kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification // *Evolutionary Bioinformatics*. 2008. V. 4. P. 193–201.

ПРОДУКЦИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ
PHIALOCEPHALA FORTINII И *ASPARAGUS OFFICINALIS* L.Доронькина Н.А., Сеницына Ю.В.
ННГУ им. Н. И. Лобачевского

Узнавание в паре «гриб-растение» и формирование симбиоза в настоящее время является дискуссионной темой, единого представления о механизмах такого взаимодействия пока не выработано. Активные формы кислорода (в том числе, пероксид водорода) — вещества, выработка которых значительно и быстро изменяется при наступлении неблагоприятных условий для клеток организмов разного систематического положения. Для растений показана задерживаемость этих активных метаболитов при развитии стрессовой реакции, у грибов возможная сигнальная роль пероксида водорода обсуждается реже. В данной работе предполагается роль пероксида водорода как посредника в установлении контакта между темным септированным грибом *Phialocephala fortinii* и спаржей *Asparagus officinalis* L.

Phialocephala fortinii — эндомикоризный гриб способный вступать в симбиотические отношения со многими растениями, в том числе, с клюквой, кипарисом, брусникой — медленнорастущими ягодными или декоративными культурами. Его можно рассматривать как перспективный вид для создания биопрепарата, повышающего приживаемость и продуктивность труднокультивируемых растений. Для спаржи была показана способность образовывать симбиоз с *Ph. fortinii*. Поскольку *Asparagus officinalis* L. является быстрорастущим растением, ее можно рассматривать как удобный модельный объект для исследования механизмов формирования симбиотических отношений *Ph. fortinii* с растениями. В связи с этим целью работы явилось исследование пероксидпродуцирующей способности *Phialocephala fortinii* и *Asparagus officinalis* L. в условиях сокультивирования.

Семена спаржи сорта Аржентельская проращивали методом рулона до достижения длины корня 0,7–1,5 см. Культура *Phialocephala fortinii* была получена ранее из корней дикорастущих растений сем. *Ericaceae*, собранных на территории Нижегородской области. Микромицет культивировали на агаризованной питательной среде Чапека — Докса. Сокультивирование проводили путем помещения проростков *Asparagus officinalis* L. в чашку Петри с микромицетом *Phialocephala fortinii* на 24 часа, кончик корня располагали вблизи края роста мицелия микоризного гриба (на расстоянии 2–3 мм).

Оценку пероксидпродуцирующей способности корней проростков спаржи и высечек мицелия *Ph. fortinii* осуществляли FOX-методом путем инкубации образцов растения или микромицета в растворе, содержащем ксиленоловый оранжевый (Craig, Janusz, Gebicki, 2000). Продукцию пероксида водорода выражали в условных единицах, соответствующих количеству мкмоль H_2O_2 , выделенного 1 мг сырой биомассы за единицу времени.

Показано, что процесс выделения пероксидов в наружный омывающий раствор как образцами растения, так и микромицета был линейным на протяжении двух часов инкубации. При этом наибольшая скорость продукции пероксида наблюдалась у *Asparagus officinalis* L. без сокультивирования — около 9 усл.ед./час, а наименьшая у *Ph. fortinii* — 1 усл.ед./час. После 24 часов сокультивирования скорость продукции пероксида водорода менялась у исследованных объектов противоположно — снижалась у спаржи в 4–5 раз и росла у микромицета — примерно в 6 раз. Совместное инкубирование в растворе ксиленолового оранжевого растения и гриба после сокультивирования показало самую низкую пероксидпродуцирующую способность этих объектов.

Таким образом, *Phialocephala fortinii* оказывала ингибирующее действие на продукцию пероксида водорода корнями проростков спаржи после сокультивирования. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в начальный период формирования контакта «гриб-растение» (первые сутки) эндомикоризный гриб способен подавлять продукцию пероксида водорода корнями растения-хозяина. Поскольку пероксид водорода является одним из обязательных компонентов проявления фитоиммунитета, вовлечен в реакцию сверхвысокой чувствительности растений, можно предположить, что модификация пероксидпродуцирующей способности корней растения и мицелия является одним из ранних этапов формирования их симбиотических отношений.

Список литературы

1. Craig G., Janusz M., Gebicki A. Critical evaluation of the effect of sorbitol In the ferric xylenol orange hydroperoxide assay // Analytical Biochemistry. 2000. Vol. 284. P. 217–220.

**К ВОПРОСУ СОЗДАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗ И ВЕРМИКОМПОСТА: МИКОСИМБИОТРОФИЗМ СОИ ПОСЕВНОЙ
(*GLICINE MAX*) СОРТА ПАМЯТЬ ПРИ ВНЕСЕНИИ ВЕРМИКОМПОСТА
В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО ЭКСПЕРИМЕНТА**

**Фалеев Д.Г.¹, Дидоренко С.В.², Нусупов А.А.¹, Фалеев Е.Г.¹, Акильбекова А.И.¹,
Абдикарим Г.М.¹, Саткен Х.С.¹, Богуспаев К.К.¹**

¹ДГП на ПХВ «НИИ проблем экологии» РГП «КазНУ им. аль-Фараби»;
²ТОО «Казахский НИИ земледелия и растениеводства», Алматы, Казахстан

Проблема истощения и деградации сельскохозяйственных угодий, их загрязнения различными веществами антропогенного происхождения в следствие длительного использования химических удобрений и ядохимикатов, а также, растущий спрос на сельскохозяйственную продукцию, побуждает исследователей по всему миру к разработке новых экологически безопасных, рентабельных биотехнологий направленных на повышение почвенного плодородия и урожайности растений. Одним из перспективных направлений является разработка комплексных биопрепаратов широкого спектра действия, в частности, с использованием арбускулярных микориз и вермикомпоста [1–3]. При этом, в ходе решения данных задач возникает множество методических вопросов взаимодействия в системе «гриб-микоризообразователь — растение-хозяин» при внесении в почву вермикомпоста, который, уже сам по себе, является сложным, комплексным биопрепаратом содержащим широкий спектр органических и минеральных веществ, а также микроорганизмов (более 150 видов) среди которых грибы р. *Trichoderma* [1, 4].

Арбускулярные микоризные грибы (АМГ) повышают устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды: недостатку влаги и питательных элементов (АМГ способствуют извлечению из почвы и переводу в легко усваиваемую для растения-хозяина форму, в то числе N, P), засолению и загрязнению почв различными поллютантами антропогенного происхождения, повышают устойчивость к фитопатогенам. При этом, на жизнедеятельность АМГ существенное влияние оказывают влажность и pH почвы, севооборот, внесение различных ядохимикатов (особенно фунгицидов) и удобрений. Вермикомпост — концентрированное удобрение и чрезмерное его использование может привести к снижению степени микосимбиотрофизма [3,5,6].

Соя входит в десятку наиболее широко возделываемых культур, ежегодное производство которой в мире исчисляется сотнями миллионов тонн. Данная культура является перспективной для возделывания на территории Казахстана, где в последние годы получает все более и более широкое распространение [7,8].

Нами были проведены исследования с целью выявления влияния вермикомпоста на микосимбиотрофизм сои посевной (*Glicine max*) сорта Память в условиях полевого эксперимента.

Объектами исследования явились вермиккультура кольчатых червей *Eisenia fetida*, растения сои культурной (*G. max*) сорта Память, грибы отдела *Glomeromycota*. В качестве сырья для производства вермигумуса использовался навоз КРС. Вермикомпост вносили в поле непосредственно перед посевом сои в концентрации 1

т/га. Препарат извлекался из вермикомпостных буртов, просеивался и фасовался по мешкам за 5–7 дней до непосредственного использования. Длительное хранение препарата, его перегрев и/или высушивание на солнце негативно сказывается на его микробиологической составляющей, органических веществах, и как следствие, ведет к существенному снижению эффективности вермикомпоста.

Для изучения микосимбиотрофизма корни (по 11–13 экземпляров каждого варианта опыта) мацерировали в 10%-ном растворе КОН, окрашивали трипановым синим и готовили давленные препараты. При микроскопировании в каждом поле зрения определялось количество гриба микоризообразователя в баллах — по пятибалльной шкале Селиванова [6]. Для определения микосимбиотического ряда дифференциации подсчитывают количество высоко- (степень микотрофности 3,5 баллов), средне- (2–3,5 балла), слабо- (до 2 баллов) и не микотрофных экземпляров в процентах [6].

Исследования проводились на производственных полях Казахского НИИ земледелия и растениеводства, близ с. Жалпаксай, в 1 км от г. Каскелен, у подножия северного макросклона хребта Заилийского Алатау (каз. Іле Алатауы) — юг Алматинской области. Вегетационный период сорта Память — 120 дней. Орошение традиционное (арычный полив). Общая площадь экспериментального поля — 8 га. Культура предшественник — кукуруза.

Проведенные исследования показали, что внесение сухого биогумуса способствовало повышению большинства показателей микосимбиотрофизма сои, некоторому улучшению ее ростовых параметров и значительному повышению урожайности. Скорее всего, на рост и развитие растений, их урожайность вермикомпост оказывал как прямое воздействие, так и опосредованное — через арбускулярные микоризы. Известно, что относительно невысокие концентрации удобрений способствуют повышению степени микосимбиотрофизма растения-хозяина, в то время как высокие концентрации приводят к существенному снижению степени микотрофности.

На 30-е сутки с начала проведения эксперимента заметилась тенденция к отставанию в росте проростков из варианта с контролем, по сравнению с вариантом опыта (с внесением вермикомпоста). Исследованные параметры роста растений контроля и опыта существенно не различались составили в среднем, соответственно — высота 11,83±3,2 и 12,79±3,3 см, общая масса одного экземпляра растения — 3,20±1,8 и 4,63±2,0 г, надземная масса одного растения — 2,68±1,5 и 3,68±1,7 количество листьев в контроле и опыте не различалось составив по 3,83±0,4 шт.

Таблица — Влияние вермикомпоста на микосимбиотрофизм сои посевной (*Glicine max*) сорта «Память» в условиях полевого эксперимента

Вариант эксперимента	Степень микотрофности (баллы, от 0 до 5)			Процент длины корня занятый микоризной инфекцией
	Гифы, везикулы, арбускулы	Везикулы	Арбускулы	
Контроль	0,91	0,42	0,05	30,70 %
Внесение вермикомпоста 1 т/га	1,22	0,62	0,17	53,52 %
U-критерий Манна-Уитни	48,5	33,0	29,0	11
Критическое значение U-критерия Манна-Уитни при заданной численности сравниваемых групп 37				
Различия уровня признака в сравниваемых группах	48,5 > 37 статистически не значимы ($p > 0,05$)	33 ≤ 37 статистически значимы ($p < 0,05$)	29 ≤ 37 статистически значимы ($p < 0,05$)	11 ≤ 37 статистически значимы ($p < 0,05$)

Рисунок — Внешний вид сои посевной сорта «Память», выращенной без внесения вермикомпоста (1) — контроль и с внесением вермикомпоста в количестве 1 т/га (2)



На 135-е сутки проведения эксперимента средний показатель высоты растений сои в контроле и опыте заметно различались, составив в среднем $94,0 \pm 9,1$ см, в варианте с внесением вермикомпоста — $101,3 \pm 14,3$ см (рисунок). При этом, сырая масса растений на m^2 в контроле составила $2,36 \pm 0,3$ кг, в то время как данный параметр в опыте (с внесением вермикомпоста) был почти в 1,5 раза выше, составив в среднем $3,38 \pm 0,6$ кг.

Средняя урожайность опытного поля — 29,8 ц/га. При этом, урожайность сои в контроле составила в среднем 25,9 ц/га (23,2 и 28,6 ц/га — контрольное поле №1 и контрольное поле №2), в варианте опыта с внесением вермикомпоста в концентрации 1 т/га урожайность *G. max* была более чем в 2 раза выше, составив 56,0 ц/га.

Частота встречаемости микоризной инфекции среди исследованных растений сои, как в контроле, так и в опыте составила 100 %, то есть все экземпляры являлись микотрофными. Все изученные экземпляры, как в контроле, так и в опыте были

представлены исключительно слабомикотрофными экземплярами: степень микотрофности не превышала 2 баллов.

Общий показатель (гифы, везикулы, арбускулы) степени микотрофности исследованных растений при внесении вермикомпоста практически не отличался от контроля составив соответственно 0,91 и 1,22 балла. При этом, данный показатель по везикулам и арбускулам в опыте был значительно выше, чем в контроле составив, в среднем 0,42 и 0,62 балла по везикулам; 0,05 и 0,17 балла по арбускулам. При этом, процент длины корня занятый микоризной инфекцией был почти в 1,5 раз больше, чем в контроле — составив в среднем, соответственно 30,7 и 53,52 % (таблица). Такие, более высокие (по сравнению с контролем) показатели микосимбиотрофизма в опыте (при внесении вермикомпоста) могут указывать на более высокий уровень двунаправленного трофического потока между растением-хозяином и грибом-микоризообразователем, и как следствие, способствовать росту микоризных растений.

Полученные данные о положительном влиянии вермикомпоста на микоризацию, рост и урожайность сои посевной в условиях полевого эксперимента показывают, что разработка биотехнологий сочетанного использования арбускулярных микориз и вермикомпоста весьма перспективна.

Для скорейшего развития производства сои в Казахстане кроме разработки новой агротехники, проведения экологического сортоиспытания и выявления сортов обладающих комплексом хозяйственно-ценных признаков необходимо разработать биотехнологии производства и использования биопрепаратов, в частности с использованием арбускулярных микориз и вермикомпоста. При этом, для повышения эффективности и рентабельности использования комплексных биопрепаратов необходим мониторинг агроэкосистем с целью выявления степени микосимбиотрофизма сельскохозяйственных культур в условиях различной агротехники.

Список литературы

1. Титов И.Н. Дождевые черви. Руководство в 2-х частях. Часть I: Компостные черви. — М.: ООО «МФК Точка опоры», 2012. — 284 с.

2. Богуспаев К.К., Титов И.Н., Фалеев Д.Г., Алиев М.А., Мырзагалиев Ж.Ж. Внедрение инновационных технологий переработки отходов животноводства для производства органических удобрений и био-препаратов // Сборник научных трудов IV международной научно-практической конференции «Вермикомпостирование и вермикультивирование как основа экологического земледелия в XXI веке: достижения, проблемы, перспективы» (Минск 6–10 июня, 2016 г.). — Минск: Конфидо, 2016. — С. 85–87.
3. Смит С.Э., Рид Д.Дж. Микоризный симбиоз. — М.: Товарищество научных изданий КМК. — 2012. — 776 с.
4. Юшкова Е.И. Биологическая активность гуминового комплекса различного происхождения и его влияние на рост и развитие растений. / Автореф. дисс. на соискание уч. степени докт. биол. наук. — Воронеж — 2010. — 44 с.
5. Sharma A.K., Johri B.N. Arbuscular Mycorrhizae Interactions in Plants, Rhizosphere and Soils. — Plymouth: Science Publishers UK, 2002. — 363 p.
6. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. — М., Наука, 1981. — 177 с.
7. Сагитов А.О., Дидоренко С.В., Кудайбергенов М.С. Рекомендации по инновационной технологии возделывания и интегрированной системе защиты сои в Алматинской области. Алматы, 2014. — 36 с.
8. Кененбаев С.Б., Кудайбергенов М.С., Дидоренко С.В. Семеноводство новых сортов сои и технология их возделывания. — Караганда, ТОО «LITERA», 2015. — 32 с.

ТРОФИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА БИОТЫ АГАРИКОИДНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ СЕВЕРО-ЗАПАДА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Калинина Л.Б.

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

Широколиственные леса на территории Северо-Запада (СЗ) европейской части России фрагментарны, занимают незначительную площадь и приурочены к поймам и долинам средних и крупных рек, берегам крупных озер, склонам холмов (Василевич, Бибилова, 2001–2002). Учитывая, что эти сообщества находятся вне оптимальных условий, крайне интересным является изучение биоты агарикоидных базидиомицетов с целью выявления закономерностей их распространения.

Специальных исследований микобиоты широколиственных лесов СЗ не проводилось, но некоторые сведения имеются в существующих работах (Морозова, 1999; Коваленко и др., 2003, 2005; Малышева и др., 2007). Собственные исследования проводились классическим маршрутным методом в период с 2014 по 2019 гг. в различных локалитетах в Кингисеппском и Ломоносовском районах Ленинградской области, Чудовском, Боровичском и Новгородском районах Новгородской области, а также в Куньинском, Островском и Локнянском районах Псковской области.

Обследовались участки естественных широколиственных лесов. Ввиду того, что дуб как правило, на СЗ растет отдельно от других широколиственных пород, и очень редко образует с ними смешанные древостой, обследованные леса мы подразделяем на три большие группы. В первую группу вошли леса с доминированием дуба — дубняки на водоразделах и дубняки в поймах. Ко второй группе отнесли леса с доминированием вяза, клена, ясеня — кленовники с ясенем на склонах и вязовники в речных долинах. Третья группа объединяет леса, в древостое которых широколиственные породы деревьев присутствуют в значительной степени (но не доминируют), а также леса с их активным возобновлением под пологом других лиственных пород. Кроме

того, обследован ряд заброшенных усадебных парков, представляющих собой полидоминантные насаждения широколиственных деревьев.

Ленинградская, Новгородская и Псковская области относятся к хорошо изученным в микологическом плане регионам — для них известно 1128, 478 и 532 вида агарикоидных грибов соответственно. По итогу проведенной работы выявлено 393 вида, произрастающих в широколиственных лесах. Из них 3 оказались новыми для России — *Mycena xantholeuca* Kühner, *Mycena tenuispinosa* J. Favre, *Mycena albidolilacea* Kühner & Maire (Song et al., 2019). До начала нашего исследования для широколиственных лесов Ленинградской, Новгородской и Псковской областей было известно 99, 72 и 32 вида, в настоящий момент — 256, 194 и 138. Таким образом, региональные фунги пополнились 38, 40 и 42 видами соответственно.

Изученная микобиота принадлежит к 107 родам, 32 семействам и 5 порядкам класса Agaricomycetes. Максимальным числом видов представлены семейства Мусенасеае — 43 вида (10,94% от общего видового богатства) и Руссулацеае — 40 (10,18%). В родовом спектре лидируют *Mycena* — 37 видов (9,41%), *Inocybe* — 26 (6,62%) и *Cortinarius* — 23 (5,85%). Распределение выявленной микобиоты по трофическим группам скорее равномерное с небольшим отставанием древообитающих грибов: к экторизообразующим симбиотрофам относятся 144 вида (36,64%), к сапротрофам — 249 видов (63,36%), из них сапротрофы на древесине — 108 видов (27,48%), напочвенные и прочие сапротрофы — 141 (34,61%).

Для дубняков, расположенных на водоразделах, выявлено 237 видов. В трофической структуре доминируют симбиотрофы — 105 видов (44,49%), на втором месте — сапротрофы на гумусе и подстилке — 73 (30,93%),

меньше всего видов, относящихся к ксилотрофам — 56 (23,73%). Стоит отметить, что в каждом из посещенных плакорных дубняков наблюдался комплекс микоризообразователей: *Boletus reticulatus* Schaeff., *Russula pseudointegra* Arnould & Goris, *Russula laurocerasi* Melzer, *Russula risigallina* (Batsch) Sacc., который более не был выявлен ни в одном из типов исследованных местообитаний. 108 видов агарикоидных грибов отмечено для пойменных дубняков. Трофическая структура микобиоты пойменных дубняков характеризуется резким падением числа симбиотрофов — 22 вида (20,37%), в то время как напочвенные сапротрофы (41 вид, 37,96%) и ксилотрофы (43 вида, 39,81%) представлены практически одинаковым числом видов и явно доминируют. Во всех дубняках были встречены виды, строго приуроченные к валежной древесине дуба — *Mycena inclinata* (Fr.) Quél., а также к дубовому опадку — *Mycetinis querceus* (Britzelm.) Antonín & Noordel.

В кленово-ясеневых лесах на склонах и пойменных вязовниках видовой состав микобиоты обеднен по сравнению с дубняками за счет резкого падения количества микоризообразующих грибов. Так, в кленово-ясеневых лесах всего было выявлено 39 видов, в пойменных вязовниках — 77 видов. Трофическая структура микобиоты агарикоидных грибов этих сообществ очень похожа: более половины выявленных видов являются деревообитающими — 21 вид (53,85%) и 39 видов (50,65%) для кленово-ясеневых и вязовых лесов соответственно, на втором месте — напочвенные сапротрофы — 14 (35,90%) и 32 (41,56%) соответственно. Биота микоризообразующих видов очень скудная — 4 вида (10,26%) для кленово-ясеневых и 6 видов (7,79%) для вязовых лесов. Для этих сообществ характерны виды, предпочитающие богатые почвы — *Lepiota boudieri* Bres., *Melanophyllum haematospermum* (Bull.) Kreisel, *Cystolepiota adulterina* (F.H. Møller) Bon, а также деревообитающие со строгой субстратной приуроченностью — *Rhodotus palmatus* (Bull.) Maire (на СЗ развивается исключительно на древесине вяза), *Mycena arcangeliana* Bres. (приурочена к древесине клена), *Pluteus aurantiorugosus* (Trog) Sacc. (древесина вяза).

В лесах третьей группы обследованных лесов со значительней долей участия (но не доминирующих) широколиственных пород отмечено 98 видов. Лидируют микоризообразователи — 49 видов (50,00%), напочвенные сапротрофы и ксилотрофы представлены близким числом видов — 26 (26,53%) и 23 (23,47%) соответственно. В микобиоте этих сообществ преобладают распространённые виды с широкой экологической амплитудой, можно лишь выделить виды, обитающие на небольших отпавших веточках клена, вяза, липы —

Simocybe haustellaris (Fr.) Watling, *Gymnopus foetidus* (Sowerby) P.M. Kirk и сухостойных вязах *Hypsizyguis ulmarius* (Bull.) Redhead.

Для заброшенных парков было выявлено 103 вида. По трофической структуре микобиота этих своеобразных растительных сообществ близка к таковой у пойменных дубняков. Напочвенные сапротрофы (42 вида, 40,78%) и ксилотрофы (32 вида, 33,04%) занимают лидирующую позицию, симбиотрофов всего 27 видов (26,21%). Видовой состав очень своеобразен, встречаются виды, характерные как для дубняков — эктомикоризообразующие *Hebeloma sacchariolens* Quél., *Lactarius quietus* (Fr.) Fr., приуроченный к древесине дуба *Gymnopus fusipes* (Bull.) Gray, так и для лесов с кленом, ясенем, вязом — *Inocybe geophylla* var. *lilacina* (Peck) Gillet, образующая эктомикоризу с широколиственными деревьями, приуроченный к древесине вяза *Pluteus aurantiorugosus* (Trog) Sacc., *Entoloma araneosum* (Quél.) M.M. Moser с неясным трофическим статусом.

Список литературы

1. Василевич В.И., Бибикова Т.В. Широколиственные леса Северо-Запада Европейской части России. I. Типы дубовых лесов // Ботанический журнал. 2001. Т. 86, вып. 7. С. 88–101.
2. Василевич В.И., Бибикова Т.В. Широколиственные леса Северо-Запада Европейской части России. II. Типы липовых, кленовых, ясеневых и ильмовых лесов // Ботанический журнал. 2002. Т. 87, вып. 2. С. 48–61.
3. Коваленко А.Е., Морозова О.В., Нездомийного Э.Л., Попов Е.С. Материалы к изучению агарикоидных базидиомицетов Новгородской области // Новости систематики низших растений. 2005. Т. 38. С. 130–148.
4. Коваленко А.Е., Колмаков П.Ю., Морозова О.В., Попов Е.С. Макромицеты национального парка «Себежский» // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37, вып. 5 С. 37–48.
5. Мальшева В.Ф., Мальшева Е.Ф., Змитрович И.В. Материалы к изучению высших базидиомицетов Новгородской области // Новости систематики низших растений. 2007. Т. 41. С. 133–155.
6. Морозова О.В. Агарикоидные базидиомицеты Ленинградской области. I. История изучения и некоторые новые данные // Микология и фитопатология. 1999. Т. 33, вып. 5 С. 322–330.
7. Song J., Liang J.-F., Mehrabi-Koushki M. et al. Fungal Systematics and Evolution: FUSE 5 // Sydowia. 2019. Vol. 71. P. 141–245.

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПЛОДОВЫМИ ТЕЛАМИ МАКРОМИЦЕТОВ И МИКСОМИЦЕТОВ

Лысак Л.В., Лытыгин Е.В., Сизов Л.Р., Гмошинский В.И.

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

Исследования разнообразия бактериальных сообществ в локусах, связанных с развитием макромицетов и миксомицетов в природных условиях, крайне мало численны и фрагментарны. Практически не изучены бактериальные сообщества, ассоциированные с плодовыми телами макромицетов и миксомицетов в природном лесном фитоценозе, хотя биомасса этих организмов летом и осенью довольно велика. Исследование биоценологических связей бактерий с макромицетами и миксомицетами представляет как практический интерес с точки зрения направленного поиска прокариот с важными для биотехнологии свойствами, так и затрагивает теоретический аспект, связанный с изучением механизмов взаимодействия прокариотической и эукариотической составляющих лесной экосистемы.

Плодовые тела макромицетов являются специфическим местообитанием для бактерий. Комплексы культивируемых сапротрофных бактерий исследованных нами 7 видов базидиомицетов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita panterina*, *Coprinus comatus*, *Armillaria mellea*) имели значительное сходство, что выразалось в соотношении и спектрах доминирующих родов. Разнообразие и структура бактериальных комплексов зависели от стадии развития и способа разложения плодового тела. На поверхности молодых плодовых тел доминировали, как правило, бактерии родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Mucosoccus*, во внутренних тканях обнаружены также бактерии родов *Streptomyces*, *Bacillus*, проявляющие хитинолитическую активность. При разложении плодовых тел численность бактерий значительно увеличивалась независимо от механизма деструкции: автолиз (*Coprinus comatus*) или разложение личинками мицетофилид (*Armillaria mellea*). При автолизе плодовых тел *Coprinus comatus* в бактериальном комплексе доминировали бактерии рода *Pseudomonas*, при разложении плодовых тел *Armillaria mellea* личинками мицетофилид — бактерии родов *Aeromonas* и *Vibrio*. Поскольку разложение плодовых тел происходит на поверхности лесной подстилки и почвы, под разлагающимися плодовыми телами возникают локусы повышенной концентрации бактерий родов *Pseudomonas* (*Coprinus comatus*), *Aeromonas* и *Vibrio* (*Armillaria mellea*), что и подтверждено экспериментальными данными.

Миксомицеты — грибоподобные эукариоты, которые длительное время относили к грибам, а по современной систематике относят к группе Амёбозоа, однако до настоящего времени они традиционно остаются объектом изучения микологов. Миксомицеты широко распространены в лесах умеренного пояса и являются важным компонентом фаготрофного комплекса в лесных биоценозах. Однако биоценологические связи миксомицетов с прокариотами изучены слабо.

Нами были изучены бактериальные сообщества плодовых тел 13 видов миксомицетов, принадлежащих к 7 родам (*Badhamia*, *Hemitrichia*, *Trichia*, *Fuligo*, *Lycogala*, *Physarum*, *Stemonitis*). Численность культиви-

руемых сапротрофных бактерий, ассоциированных с миксомицетами в природном лесном фитоценозе, довольно велика и сравнима с численностью бактерий в лесной подстилке. Таксономическая структура комплексов культивируемых сапротрофных бактерий исследованных нами плодовых тел миксомицетов имела значительное сходство между собой. Доминировали, главным образом, грамтрицательные бактерии родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Cytophaga*, *Mucosoccus*, реже обнаруживались бактерии родов *Streptomyces*, *Bacillus* и *Beijerinckia*.

Таксономическое разнообразие бактериального сообщества, ассоциированного с плодовыми телами миксомицета *Lycogala epidendrum*, было изучено нами также при помощи метода высокопроизводительного секвенирования переменного региона гена 16S рРНК. Бактериальное сообщество было представлено следующими филумами: Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria и Chlorobi. Филум Proteobacteria доминировал в микробиоме (98% от общего числа сиквенсов), содержание других филумов в сумме составляло около 2%.

Анализ таксономического состава бактериального сообщества плодовых тел *L. epidendrum* выявил представителей 31 рода из 6 филумов. В сообществе плодовых тел преобладали представители класса Gammaproteobacteria — род *Pseudomonas* (77 % от общего числа сиквенсов) и род *Luteibacter* (7%). Представители рода *Pseudomonas* демонстрируют большое метаболическое разнообразие и способны к колонизации различных экологических ниш. Большинство известных видов являются копиотрофами, однако целлюлолитическая и хитинолитическая активность была выявлена у некоторых штаммов вида *Pseudomonas fluorescens*, выделенных со спорокарпов трюфелей. Численность псевдомонад-гидролитиков увеличивалась по мере созревания спорокарпов грибов, что позволило предположить их участие в разрушении стенок плодовых тел макромицетов (Citterio et al., 2001).. Схожую экологическую функцию род *Pseudomonas* может, видимо, выполнять и на плодовых телах *L. epidendrum*. Бактерии рода *Luteibacter* — копиотрофы, активно использующие легкодоступные мономеры, но неспособные к разложению трудно разлагаемых субстратов. Содержание представителей семейства Nitrosomonadaceae из класса Betaproteobacteria составило 1 % от сообщества плодовых тел, что позволяет предположить их активное участие в процессах окисления аммонийных соединений на поверхности спорофоров. В минорных количествах в бактериальном сообществе плодовых тел присутствовали представители класса Alphaproteobacteria, в том числе бактерии родов *Rhizobium* и *Bradyrhizobium*, которые способны не только к фиксации молекулярного азота, но также могут участвовать в деградации ароматических соединений и процессе денитрификации (Jones et al., 2016; Vaninsberghe et al., 2015). Вклад остальных филумов в

сообществе плодовых тел не превышал 1%. Среди них обнаружены представители родов *Lactobacillus* (филум Firmicutes), *Mucilaginibacter* (филум Bacteroidetes), *Microbacterium* и *Streptomyces* (филум Actinobacteria) и *Terriglobus* (филум Acidobacteria).

Таким образом, бактериальное сообщество, ассоциированное с плодовыми телами миксомицета *L. epidendrum* характеризуется абсолютным доминированием рода *Pseudomonas* (80%). Доминирование бактерий рода *Pseudomonas* вполне закономерно. Бактерии вида *Pseudomonas*, обычные обитатели филлосферы, ризосферы и ризопланы растений, а также плодовых тел макромицетов, характеризующиеся гибким метаболизмом, демонстрируют значительное трофическое и физиологическое разнообразие. Обнаружение целлюлолитической и хитинолитической активности у некоторых штаммов *Pseudomonas fluorescens* позволяет предположить, что псевдомонады могут принимать участие в разрушении плодовых тел миксомицета *L. epidendrum*., однако вклад их в этот процесс незначителен. Отсутствие среди бактерий, ассоциированных со спорофорами миксомицета активных гидролитиков, позволяет предположить, что они, главным образом, являются, трофическим окружением активных гидролитиков, микромицетов и актиномицетов, обитающих на поверхности плодовых тел и разлагающих поверхностные ткани спорофоров. Бактерии, обитающие на поверхности плодового тела миксомицета, могут, видимо, служить питательным субстратом для расселительной стадии миксомицета (миксамеб) при попадании разлагающегося плодового тела на поверхность лесной подстилки. Не исключено, что бактерии,

ассоциированные со спорофорами миксомицета, могут быть продуцентами биологически активных веществ, способствующих формированию плазмодия и распространению миксамеб.

Полученные результаты свидетельствуют об активном влиянии макромицетов и миксомицетов на разнообразие и структуру бактериальных сообществ опада, лесной подстилки и верхнего почвенного горизонта в лесной экосистеме вследствие создания локусов повышенной концентрации грамотрицательных бактерий, в первую очередь представителей рода *Pseudomonas*. Полученные результаты могут быть использованы для детализации механизмов взаимодействий между эукариотной и прокариотной составляющими в природном лесном биоценозе и при направленном поиске и выделении из природных субстратов штаммов бактерий с важными для биотехнологических целей свойствами.

Список литературы

1. Citterio B., Malatesta M., Battistelli S. et al. Possible involvement of *Pseudomonas fluorescens* and Bacillaceae in structural modifications of *Tuber borchii* fruit bodies // Can. J. Microbiol. 2001. V. 47. P. 264–268.
2. Jones F.P., Clark I.M., King R. et al. Novel European free-living, non-diazotrophic *Bradyrhizobium* isolates from contrasting soils that lack nodulation and nitrogen fixation genes — a genome comparison // Scientific Reports. 2016. V. 6. Art. № 25858.
3. Vaninsberghe D., Maas K.R., Cardenas E. et al. Non-symbiotic *Bradyrhizobium* ecotypes dominate North American forest soils // ISME J. 2015. V. 9. P. 2435–2441.

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКОТРОФНОСТИ *TRIFOLIUM PRATENSE* L. НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НАРУШЕННЫХ БИОТОПОВ

Мазурек Б.Г.¹, Жебрак И.С.¹, Кожевин П.А.³

¹Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Беларусь

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

Интенсивная антропогенная деятельность приводит к деградации окружающей среды. В нарушенных ландшафтах повреждены в той или иной степени все основные компоненты экосистемы. Как известно, после устранения нарушающего воздействия многие нарушенные экосистемы способны к самовосстановлению за счет репарационных процессов. Такая возможность, в частности, связана с классической сукцессионной схемой Клементса, однако процессы самовосстановления, как правило, проходят медленно в течение десятков и сотен лет. Конечной целью работ по их рекультивации является создание устойчивых и достаточно продуктивных естественных (процесс самовосстановления) или искусственных биогеоценозов. Для биологической рекультивации таких территорий необходимы научные рекомендации, основанные на изучении нарушенных ландшафтов как среды обитания растений. Выяснение закономерностей формирования фитоценозов на антропогенных биотопах неполно без познания внутренних функциональных

связей между отдельными компонентами, причем ключевыми являются симбиотические отношения растений с микроорганизмами, включая микоризу [1; 2]. Управление сукцессиями возможно почти исключительно путем регуляции связей между растениями и субстратами, она указывает на необходимость учета представлений о способах почвенного питания растений [3]. Наземные растения разработали ряд стратегий, которые позволяют им эффективно получать доступ к питательным веществам. Эти стратегии включают развитие обширных корневых систем с тонкими корнями и длинными корневыми волосками и симбиотические взаимодействия. Таким образом, микориза является важным фактором адаптации растений к условиям среды, которые способствуют повышению устойчивости растительных сообществ [4]. Арбускулярные микоризные грибы (АМГ) обеспечивают своих хозяев водой и минеральными элементами (например, фосфором), повышают их устойчивость к корневым паразитам, противодействует неблагопри-

ятному влиянию тяжелых металлов и солености, и положительно влияют на продуктивность растений [5].

В связи с этим проведена работа по изучению микотрофности клевера лугового на разных стадиях сукцессии после восстановления антропогенных ландшафтов. Клевер луговой участвует в процессе естественного зарастания нарушенных биотопов. Значимость бобовых растений в сельском хозяйстве хорошо известна и не требует особых комментариев. Поэтому представляет интерес и целенаправленная попытка применения бобовых для улучшения условий для роста растений в ходе рекультивации техногенных биотопов. Клевер улучшает структуру почвы и ее физические и химические свойства, обогащает ее азотом. Для характеристики функционального состояния растений в различных биотопах определяли содержание в листьях хлорофилла, флавоноидов и белка. Количественное содержание и качественный состав пигментов, изменение их соотношения в листьях — важные и чувствительные показатели физиологического состояния растений и их фотосинтетического аппарата, направленности адаптивных реакций при воздействии стрессовых условий.

Цель работы — изучение влияния микотрофности и физико-химического состава почвы на физиолого-биохимические параметры клевера лугового (*Trifolium pratense*) при восстановлении нарушенных биотопов.

Материалы и методы. Нами были отобраны четыре фитоценоза, которые находились на разных стадиях восстановления: начальная, мозаичная, смыкания травяного напочвенного покрова и стадия сформированного луга (контроль). На каждом участке отбирали по 25 экземпляров растений клевера лугового во время цветения, а также почвенные образцы. Измеряли длину надземной части растений и корней, количество боковых корней. Из корней клевера лугового (после мацерации и окрашивания анилиновым синим) готовили препараты (по 15 фрагментов корней длиной 1 см на одном предметном стекле). Из каждого фитоценоза рассматривали по 25 препаратов корней. По методу Травло определяли степень микотрофности клевера

лугового [6]. Полученные результаты обрабатывали в программе *Mikoryza 1.1 beta*, где рассчитывали частоту встречаемости (F, %), интенсивность микоризации (M, %) и обилие арбускул (A, %).

В листьях клевера определяли концентрацию флавоноидов. К 0,1 мл вытяжки листьев клевера лугового прибавляли 5 мл 0,05 М раствором алюминия хлорида в этаноле. Измеряли оптическую плотность полученного раствора и рассчитывали содержание флавоноидов в процентах [7]. Для определения концентрации хлорофилла в листьях клевера готовили вытяжку листьев (5 навесок) в этаноле. Измеряли оптическую плотность вытяжки, затем рассчитывали процентное содержание хлорофилла а и б [7]. Содержание белка в образцах клевера лугового определяли по методу Брэдфорда [8]. Определение физико-химических свойств почв проводили по общепринятым методикам в лаборатории кафедры почвоведения Гродненского государственного аграрного университета. Полученные результаты обрабатывались в программе *Statistica 10.0*.

Результаты исследования. При исследовании степени микотрофности *Trifolium pratense* отмечали увеличение частоты встречаемости арбускулярных микоризных грибов (АМГ) (F=69,1–96,4%), интенсивности микоризации (M=9,0–64,7%) и обилия арбускул (A=7,5–56,7%) в луговых фитоценозах на более поздних стадиях сукцессии. Высота надземной части растений клевера лугового была наибольшая в фитоценозе сформированного луга (53,8 см), количество боковых корней первого порядка — на начальной стадии сукцессии (15 шт.) (таблица).

Исследование физико-химических свойств почвенных образцов показало, что в фитоценозе на начальной стадии сукцессии содержание фосфора было наибольшее (305 мг/кг). Предполагается, что степень микоризации увеличивается в ответ на дефицит фосфора в почве [4]. В почве сформированного луга отмечали наибольшее содержание калия, в то время как показатели pH и содержание гумуса были практически одинаковы на всех исследуемых участках. Отмечали наибольшую концентрацию хлорофилла (0,35%) и белка (0,09 мг)

Таблица — Микотрофность клевера лугового, его физиолого-биохимические показатели и физико-химические свойства почвы луговых фитоценозов на разных стадиях сукцессии

Показатель	Стадия сукцессии			
	начальная	мозаичная	смыкания	сформированного луга
Частота встречаемости АМГ (F, %)	69,1±3,6	72,0±3,5	93,6±2,3	96,4±1,6
Интенсивность микоризации (M, %)	9,0±1,2	28,8±3,6	33,3±3,7	64,7±4,0
Обилие арбускул (A, %)	7,5±1,0	28,2±3,6	30,8±3,6	56,7±4,3
Высота надземной части, см	40,2±1,2	37,9±1,4	44,3±1,7	53,8±1,7
Количество боковых корней первого порядка, шт	15±1,0	10,0±0,8	10±0,7	10±0,6
Флавоноиды, %	1,78	1,87	1,57	2,81
Хлорофилл, %	0,31	0,31	0,35	0,22
Содержание белка, мг	0,07	0,06	0,09	0,05
pH	6,7	6,7	7,2	6,8
P ₂ O ₅ , мг/кг	305	280	210	275
K ₂ O, мг/кг	115	170	120	210
Гумус, %	2	2,20	2,01	2,05

у растений, произраставших в фитоценозе на стадии смыкания травяного напочвенного покрова, а флавоноидов — у растений сформированного луга (2,81%) (таблица).

Установили положительную корреляционную зависимость между степенью микотрофности и высотой надземной части ($r=0,54$, $p<0,05$), а для показателя обилия корней регистрировалась отрицательная зависимость ($r=-0,34$, $p<0,05$). При проведении корреляционного анализа выявили положительную корреляционную зависимость между содержанием флавоноидов и интенсивностью микоризации ($r=0,68$, $p<0,05$), обилием арбускул ($r=0,63$, $p<0,05$). Однако содержание хлорофилла в листьях клевера лугового отрицательно коррелировало с интенсивностью микоризации ($r=-0,6$, $p<0,05$) и обилием арбускул ($r=-0,55$, $p<0,05$). Мы предполагаем, что данные показатели связаны с тем, что клевер луговой находится в процессе адаптации к меняющимся условиям восстановления антропогенных биотопов. Не выявлена корреляционная зависимость между частотой встречаемости арбускулярных микоризных грибов и содержанием пигментов, белка в листьях клевера лугового. Отмечена отрицательная связь между интенсивностью микоризации и содержанием белка ($r=-0,55$). Исследования взаимосвязи между физико-химическими свойствами почвы показали наиболее сильную корреляционную зависимость между содержанием калия в почве и содержанием белка в листьях клевера лугового ($r=-0,8$, $p<0,05$), концентрацией флавоноидов ($r=0,8$, $p<0,05$), хлорофилла ($r=-0,63$, $p<0,05$). Гумус положительно коррелирует с содержанием флавоноидов ($r=0,6$, $p<0,05$) и отрицательно с содержанием белка ($r=-0,6$, $p<0,05$). Не установлено корреляционной зависимости между рН, содержанием фосфора в почве и содержанием белка, флавоноидов и хлорофилла в листьях клевера лугового.

Таким образом, результаты исследований показали, что степень микотрофности положительно коррелирует с концентрацией флавоноидов, высотой надземной части, но отрицательно — с концентрацией хлорофилла, количеством боковых корней первого порядка. Также была выявлена отрицательная зависимость между фитохимическими показателями клевера лугового и содержанием калия в почве, концентрацией белка — и содержанием гумуса. С помощью алгоритмов распознавания образов установлено, что

по физиолого-биохимическим признакам растения и индексам микоризации можно в данном случае практически безошибочно определить стадию самовосстановления ландшафта.

Список литературы

1. Лукина, Н. В. Микориза как фактор адаптации растений к техногенным субстратам / Н. В. Лукина, Н. О. Ударцева // Эколого-биологические проблемы Сибири и сопредельных территорий: Материалы I Международной научно-практической конференции (г. Нижневартовск, 25–26 марта 2009 года) / Нижневартовск: Изд-во Нижневарт. гуманит. ун-та. — 2009. — 304 с.
2. Чибрик Т. С. О микотрофности растений на отвалах угольных разработок Урала / Т.С. Чибрик, Т.И. Нагибина, Т.Е. Рябкова // Растения и промышленная среда. — Свердловск, 1980. — С. 33–79.
3. Веселкин Д.В. Соотношение микоризных и немикоризных видов растений в первичных техногенных сукцессиях / Д.В. Веселкин, Н.В. Лукин, Т.С. Чибрик // Экология. — 2015. — № 5. — С. 345–353.
4. Smith, Sally E. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas / Sally E. Smith, Evelina Facelli, Suzanne Pope, F. Andrew Smith // Plant soil. — 2010. — P. 776.
5. Klichowska, E. Soil properties rather than topography, climatic conditions, and vegetation type shape AMF — feathergrass relationship in semi-natural European grasslands / E. Klichowska, M. Nobisa, P. Piszczeka, J. Błaszczkowski, S. Zubeka // Applied Soil Ecology. — № 144. — 2019. — P. 22–30.
6. Trouvelot A. Mesure du taux de mycorrhization VA d, un systeme radiculaire. Recherche de methods d, estimation ayant une signification fonctionnelle / A. Trouvelot, J.L. Kough, V. Gianinazzi-Pearson // Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Paris. — 1986. — P. 217–221.
7. Туманов, В.Н. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза: практикум / В.Н. Туманов, С.Л. Чирук. — Гродно: ГрГУ им. Я. Купалы, 2007. — 62 с.
8. Биохимические методы анализа. Под ред. М.Н. Запрометова, — Москва: Издательство иностранной литературы, 1960. — 592 с.

ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКОРИЗООБРАЗОВАНИЯ СВЕТЛОХВОЙНЫХ

Мухаметова Г.М.², Зайцев Г.А.¹

Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы,

¹Уфимский институт биологии РАН

Микоризообразующие грибы, связывая в единый комплекс субстрат и растения, являются не только важным экологическим фактором индивидуального развития растения, но и способствуют повышению устойчивости и степени сформированности культур-

ных насаждений светлохвойных древесных пород, произрастающих под влиянием промышленного загрязнения. На техногенных субстратах при обеднении минеральным питанием (особенно азота и фосфора), неблагоприятном водном и воздушном режимах дре-

весных растений наличие микоризообразования является важным фактором адаптации светлохвойных к изменениям условий среды (Чибрик, 2011). Под воздействием промышленного загрязнения у древесных растений происходят структурно-функциональные изменения органов, в первую очередь поглощающей части корневой системы, образующей эктомикоризы.

Целью данной работы было изучение анатомо-морфологических особенностей микоризообразования *Pinus sylvestris*. Изучение микоризообразования светлохвойных видов, произрастающих в условиях промышленного загрязнения, проводилась как часть комплексных исследований на постоянных пробных площадях, заложенных и описанных ранее лабораторией лесоведения Уфимского института биологии РАН.

В качестве объекта изучения были выбраны культурные насаждения *Pinus sylvestris* санитарно-защитной зоны Стерлитамакского промышленного центра Республики Башкортостан лесостепной зоны Предуралья (53°37' с.ш., 55°57' в.д.). В последние десять лет присутствует нестабильность климатических факторов (повышенная влажность, засушливые периоды, резкие температурные перепады и т. д.) и увеличение промышленного воздействия, которые оказывают влияние на древесные растения, поэтому мы повторили серию экспериментов.

Пробы отбирались в конце вегетационного сезона по общепринятым методикам (Селиванов, 1981), так как именно в это время микоризообразование достигает своего максимума. Микоризные корневые структуры не являются многолетними и существуют 6–16

месяцев. Исследование анатомических структур микоризообразования проводили по методике Д.В. Веселкина (2003) описывая следующие признаки: параметры фитобионта (размеры корня, число слоев живых и отмирающих клеток коры корня, тургор клеток коры) и особенности формирования микобионта (толщина и тип сложения грибного чехла, сеть Гартига). Анализируя структурное разнообразие подтипов грибного чехла использовали индекс Шеннона.

В результате исследований двух лет количество микоризных окончаний при промышленном воздействии увеличилось с 61–75% до 78–87%, при этом негативное воздействие повлияло на структурное разнообразие типов грибных чехлов, Индекс Шеннона в контрольных выборках больше, чем в загрязнение (табл. 1). Влияние промышленного загрязнения выражается в изменении соотношения обилия микориз с чехлами разного типа сложения, при этом количество подтипов грибных чехлов одинаково на всех пробных площадях. Встречаемость бесструктурных грибных чехлов характерных для финальных этапов морфогенеза микоризообразования в зоне промышленного загрязнения увеличивается в 1,5–2 раза. Представленность наиболее активных и хорошо структурированных грибных чехлов псевдопаренхиматического и двойного типа сложения в 2009 году при промышленном загрязнении снижается, а в 2016 году обилие таких чехлов при промышленном воздействии не изменилось. Обилие плектенхиматических грибных чехлов характерно для начала роста микоризных корневых окончаний, что свидетельствует о низкой физиологической активности эктомикоризы.

Таблица 1 — Разнообразие типов грибных чехлов *Pinus sylvestris*

Признак	2009 год		2016 год	
	контроль	загрязнение	контроль	загрязнение
Интенсивность микоризации, %	61	78	75	87
Индекс Шеннона	1,78	1,62	1,97	1,75
Число подтипов, шт	9	10	11	11
Обилие плектенхиматических чехлов, %	34	27	51	25
Обилие псевдопаренхиматических и двойных чехлов, %	32	26	28	28
Обилие бесструктурных чехлов, %	34	47	21	47

Таблица 2 — Вариабельность общих размерных и качественных параметров эктомикоризных корней *Pinus sylvestris* в условиях СПЦ

Параметр	2009 год		2016 год	
	контроль	загрязнение	контроль	загрязнение
Общий диаметр корневого окончания, мкм	371,0±10,6	432,8±10,8***	320,9±8,7	284,7±9,0**
Радиус корня, мкм	169,7±4,9	198,6±5,2***	128,0±4,1	147,0±4,05**
Толщина грибного чехла, мкм	22,8±1,3	25,9±1,5	14,5±0,9	18,8±2,4
Доля объема чехла, %	16,3	15,7	17,0	22,6**
Среднее число слоев таниновых клеток, шт	1,33±0,06	1,91±0,11***	1,38±0,07	1,51±0,07
Число слоев «живых» клеток коры корня, шт	2,27±0,10	1,93±0,09*	2,46±0,08	2,15±0,10*
Число слоев сети Гартига, шт	1,82±0,11	1,61±0,08	1,97±0,07	1,52±0,08***
Встречаемость таниновых клеток, %	83	86	35	36
Встречаемость окончаний с утерянным тургором (в форме звезды на срезе), %	35	37	32	48

Значимость различий *** $p < 0,0001$, ** $p < 0,001$, * $p < 0,01$

Анализ вариабельности анатомо-морфологических параметров в условиях произрастания Стерлитамакского промышленного центра в 2009 году показал, что общий диаметр корневого окончания увеличивается при влиянии промышленного загрязнения. Общий диаметр корневого окончания *Pinus sylvestris* в контроле варьировал от 77 до 667 мкм, в зоне промышленного загрязнения минимальный диаметр корневого окончания фиксировался 230 мкм и увеличивался до 836 мкм. При этом растительный симбионт увеличивает размерные признаки при промышленном воздействии (радиус корня, число слоев таниновых клеток, клеток паренхимы коры), а у грибного симбионта достоверно значимых различий не выявлено, т. е. толщина грибного чехла изменяется в пределах от 6–7 мкм до 61–87 мкм (табл. 2). При промышленном загрязнении для *Pinus sylvestris* характерно большее число слоев танниновых клеток, отмирающих клеток коры корня, которые в большинстве случаев сплющиваются в тангентальном направлении. Возрастание встречаемости таких клеток соответствует уменьшению числа слоев «живых» клеток коры корня, что и наблюдается у сосны в условиях промышленного загрязнения.

В 2016 году исследований общий диаметр корневого окончания при промышленном воздействии меньше, чем в контроле, не смотря на это, растительный симбионт при промышленном воздействии увеличивает свой радиус корня. Однако в целом при промышленном воздействии структурные компоненты микоризного окончания угнетаются, причем в равной степени фито- и мико- бионт: увеличивается среднее число сло-

ев таниновых клеток, уменьшается число слоев клеток паренхимы соответственно и число слоев сети Гартига. За счет увеличения доли объема грибного чехла в микоризном окончании идет сдвиг в микоризной ассоциации в сторону грибного симбионта.

Таким образом, промышленное загрязнение оказало стимулирующее влияние на интенсивность микоризообразования *Pinus sylvestris*. Во всех исследованных случаях не смотря на снижение разнообразия набора грибных чехлов, уменьшению встречаемости псевдопаренхиматических чехлов и увеличению бесструктурных чехлов микоризообразование *Pinus sylvestris* оказалось устойчивым к промышленному загрязнению. Неблагоприятное воздействие растения может компенсировать более высоким уровнем развития микоризообразования.

Список литературы

1. Чибрик Т.С. Экологические основы и опыт биологической рекультивации нарушенных промышленностью земель / Т.С. Чибрик, Н.В. Лукина, Е.И. Филимонва, М.А. Глазырина, — Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2011. — 268с
2. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М.: Наука, 1981. 232 с.
3. Веселкин Д.В. Изменчивость анатомических параметров эктомикоризных окончаний разного строения. //Микология и фитопатология, том 37, выпуск 1, 2003. 22–29с

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НЕКОТОРЫХ ЗАПОВЕДНИКОВ АРМЕНИИ

С.Г. Нанагюлян¹, Л.В. Маркарян¹, В.А. Власенко²

¹Ереванский государственный университет, кафедра ботаники и микологии, Армения
²Центральный сибирский ботанический сад СО РАН

В последние десятилетия большое внимание уделяется сохранению разнообразия всех организмов, в том числе и сохранению грибов, поскольку они являются неотъемлемым компонентом лесных экосистем, выполняя такие важнейшие функции, как разложение органических веществ и микоризообразование, а также имеют большое теоретическое и прикладное значение. С целью сохранения биоты макромицетов в последние годы нами проводятся планомерные исследования особо охраняемых природных территорий Армении (ООПТ).

Природоохранные территории Армении включают 378523.31 га, что составляет более 12.71% ее территории. На данный момент система ООПТ Армении включает три государственных заповедника — «Хосровский лес», «Шикаох», «Эребуни», четыре национальных парка — «Севан», «Дилижан», «Озеро Арпи» и «Аревик», 27 государственных заказников и 230 природных памятников [5].

В настоящее время выявлен состав макроскопических грибов некоторых ООПТ Армении, что дает воз-

можность провести сравнительный анализ структуры биоты обнаруженных видов.

Для структурно-сравнительного анализа биоты грибов весьма показательным является установление видового и родового сходства, а также выявление закономерностей их изменения в зависимости от фитогеографических и климатических особенностей территорий. Как отмечают некоторые авторы [3,4], на систематической структуре видового состава в меньшей степени, чем на других показателях, сказывается разница во флористическом богатстве, в степени изученности, в размерах сравниваемых территорий.

На уровне видового и родового разнообразия большой интерес представляет сравнительный анализ микобиоты Шикаохского заповедника с микобиотами Дилижанского заповедника (ныне национального парка) и заповедника «Хосровский лес», которые находятся в различных флористических районах Армении и наиболее изучены в микологическом отношении. Заповедник «Хосровский лес» (центральная Армения), площадью 23095,5 га, находится на высоте 800–2500 м над уров-

нем моря в бассейнах рек Азат и Веди. Здесь охраняемыми объектами являются горные сухие сообщества, дикие сородичи культивируемых растений, аридные редколесья, краснокнижные виды грибов, растений и животных. Вторым по величине занимаемой площади является Шикаохский заповедник (южная Армения) площадью 12137,075 га, располагается на северном макросклоне Мегринского хребта на высоте 700–2400 м над уровнем моря. В заповеднике основными объектами охраны являются лиственные, в основном дубовые, грабовые и дубово-грабовые леса, а также участки с наиболее интересными и редкими растительными сообществами, например, единственный в Южной Армении участок бука восточного (*Fagus orientalis* Lipsky) и др. Здесь же, в ущелье реки Цав, находится уникальная платановая роща, где произрастает редкий вид — восточный платан или чинар (*Platanus orientalis* L.). В Тавушском марзе в бассейнах рек Агстев и Гетик на высоте 1070–2400 м над уровнем моря был основан Дилижанский заповедник (северо-восточная Армения), площадью 33 765 га. В 2002 году заповедник был преобразован в национальный парк, где объектами охраны являются буковые и дубовые леса, тисовая роща, краснокнижные виды грибов, растений и животных [5].

В результате специальных исследований Дилижанского и Хосровского заповедников зарегистрировано 636 видов, вариаций и форм макроскопических грибов, из которых 560 видов в Дилижанском и 125 — в Хосровском заповедниках [2]. В результате планомерных микологических исследований Шикаохского заповедника в 2016 году было выявлено 436 видов, вариаций и форм макромицетов [1].

В связи с этим, нами проведены сравнительные исследования структуры макрогрибов вышеуказанных ООПТ Армении.

Материалом для данной работы послужили макроскопические грибы, собранные нами на территориях заповедников Шикаох, «Хосровский лес» и Дилижанского национального парка, гербарий кафедры ботаники и микологии Ереванского государственного университета (ЕРНМ), а также все доступные нам литературные источники.

Для более четкого выявления сходства и различия макромицетов в исследуемых охраняемых территориях был использован коэффициент Серенсена — K_s и коэффициент дифференциальности — K_d [6].

Результаты специального изучения отдельных ООПТ Армении показало, что на исследуемых территориях зарегистрировано 720 видов, вариаций и форм

макроскопических грибов из различных эколого-трофических групп.

В связи с различными природно-климатическими условиями макромицеты на отмеченных территориях отличаются как количественными, так и качественными показателями. Как видно из таблицы, по богатству видов на первом месте стоит Дилижанский заповедник с 530 видами и 211 родами макроскопических грибов. Сравнивая микобиоту данной территории с биотой Шикаохского заповедника отмечается, что общими для двух ООПТ являются 255 видов и 113 родов. Хосровский заповедник представлен 125 видами и 70 родами макрогрибов, из которых общими с Шикаохским заповедником отмечаются 97 видов и 65 родов.

Сравнительный анализ показывает, что макромицеты Шикаохского заповедника большое сходство имеют с грибами Дилижанского национального парка, который территориально находится в северо-восточной части Армении и благоприятен для произрастания грибов. Коэффициент общности родов и видов грибов для этих ООПТ соответственно равен 58,4 и 52,8, из которых общими видами являются *Boletus edulis*, *Suillus granulatus*, *Hygrocybe conica*, *Marasmius alliaceus*, *Amanita citrina*, *Phellinus conchatus*, *Schizophyllum commune*, *Daedalea quercina*, *Polyporus badius*, *Clavulina cinerea*, *Geastrum fibriatum*, *Bovista nigrescens*, *Lycoperdon perlatum*, *Scleroderma verrucosum*, *Vascellum pratense*, *Hypoxylon coccineum*, *Xylaria filiformis*, *Daldinia concentrica*, *Helvella atra*, *Monilinia fructigena*, *Exidia glandulosa*, *Tremella aurantia*, *T. mesenterica*, *Auricularia auricula-judae* и др.

Близость Дилижанского и Шикаохского заповедников объясняется обильностью видов макромицетов, экологически приуроченных к лесным фитоценозам, субстратом для которых являются в основном древесные остатки, лесная подстилка и т. д.

Следует отметить, что большинство видов макромицетов, найденных в Шикаохском заповеднике, включенных в Красную Книгу Армении [7], встречаются также в Дилижанском заповеднике.

Несмотря на то, что Хосровский лес территориально находится ближе к Шикаохскому заповеднику, его микобиота в наименьшей степени схожа с биотой изучаемого заповедника (коэффициент общности родов и видов соответственно равен 54 и 34,6), что можно объяснить различием эколого-климатических условий и отличием флористического состава высших растений изученных заповедников.

Состав макрогрибов Хосровского заповедника, который находится в центральной части республики, весь

Таблица — Общность состава макроскопических грибов Шикаохского заповедника с макромицетами других заповедных территорий

ООПТ РА	Всего		Роды			Виды		
	Число родов	Число видов	Общие	Коэф. общности	Коэф. диффер.	Общие	Коэф. общности	Коэф. диффер.
Шикаохский заповедник	176	436	–	–	–	–	–	–
Дилижанский национальный парк	211	530	113	58,4	41,6	255	52,8	47,2
«Хосровский лес» заповедник	70	125	65	54	46	97	34,6	65,4

ма специфичен. Здесь встречаются как краснокнижные виды, так и грибы, имеющие практическое значение. Общими видами являются *Pleurotus eryngii*, *Calocybe gambosa*, *Collybia dryophila*, *Marasmius oreades*, *Mycena pura*, *Schizopora paradoxa*, *Coniophora puteana*, *Serpula lacrimans*, *Inonotus hispidus*, *Sphaerobolus stellatus*, *Bovista nigrescens*, *B. plumbea*, *Calvatia craniiformis*, *Lycoperdon pusillum*, *Hypoxylon fuscum*, *Verpa conica*, *Helvella lacunosa*, *Sepultaria arenosa*, *Lophodermium juniperinum*, *Auricularia auricula-judae*, *A. mesenterica* и др.

Из числа обнаруженных видов грибов Шикаохского заповедника общими для всех сравниваемых ООПТ являются 73 вида, которые относятся к различным систематическим группам.

Проведенный сравнительный анализ систематической структуры микобиоты показал, что они в большей степени сходны, чем различны, что, по-видимому, является свидетельством общего происхождения биоты макроскопических грибов отмеченных трех ООПТ республики и общностью их исторического формирования.

Работа выполнена при частичной поддержке Комитета по Науке Министерства образова-

*ния, науки, культуры и спорта Республики Ар-
мения (18Т-1F190)*

Список литературы

1. Маркарян Л.В. Макроскопические грибы Шикаохского государственного заповедника Республики Армения // Диссертация на соиск. уч. степ. кандидата биол. наук. — Ереван. — 2016. — 143 с.
2. Нанагюлян С.Г., Таслахчян М.Г. Макромицеты Дилижанского и Хосровского заповедников Армении. — Ереван: Изд-во ЕГУ. — 1991. — 200 с.
3. Толмачев А.И. Введение в географию растений. - Л.: Изд-во ЛГУ. — 1974.- 244 с.
4. Шмидт В.М. Статистические методы в сравнительной флористике. — Л.: Изд-во ЛГУ. — 1980. — 175 с.
5. Galstyan S., Voskanyan G. Specially protected nature areas and forests of Armenia // WWF-Yerevan, 2012. — 52 p.
6. Mueller G.M., Bills G.F., Foster M.S. Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. London: Elsevier Academic press. — 2004. — 777 p.
7. The Red Book of Plants and fungi of the republic Armenia. — Yerevan: Zangak. — 2010. — 598 p.

О ЗАНОСНОМ ХАРАКТЕРЕ НЕКОТОРЫХ СИМБИОТРОФНЫХ МАКРОМИЦЕТОВ В МИКОКОМПЛЕКСЕ КРЫМСКИХ ЯЙЛ (ГОРНЫЙ КРЫМ)

Саркина И.С.

«Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН», Республика Крым, Ялта

Крымские яйлы (тюркск. «высокогорное летнее пастбище») представляют собой платообразные, в основном безлесные вершины Главной гряды Крымских гор. Они образуют тринадцать более или менее обособленных массивов и расположены на высоте от 500 до 1545 м над уровнем моря. Яйлинские ландшафты в сумме занимают 346 кв. км, а их ширина достигает 10 км (Ена, Ена, Ена, 2011). Растительность и климат яйл имеют ряд особенностей. Господствует горно-лугово-степная растительность, древесная занимает всего 7% общей площади, приурочена, в основном, к понижениям рельефа (в том числе карстовым воронкам) и представлена отдельными островками леса и рощами, в которых доминируют *Fagus sylvatica* L. и *Carpinus betulus* L. Причины безлесья крымских яйл на протяжении многих лет являются предметом дискуссии специалистов. Есть две основные версии: 1) яйлы безлесны изначально в силу вертикальной зональности растительности; 2) безлесье является следствием деятельности человека (вырубание и выжигание деревьев, выпас скота). Климат на яйлах типично горный, умеренно холодный и наиболее влажный в Крыму. В силу этих особенностей крымские яйлы являются местом произрастания большинства эндемиков полуострова.

Изучение макромицетов крымских яйл целенаправленно проводится с 90-х годов прошлого столетия. К настоящему времени в яйлинских растительных сообществах выявлено около 200 видов макромицетов, наиболее изученной является локальная микобиота Ай-Петринской яйлы (Саркина, 2005, 2018; Саркина, Придюк, 2012).

К заносным, или адвентивным (чужеродным) относят виды, не свойственные местной флоре, занос которых на данную территорию не связан с естественным ходом флорогенеза, а является результатом прямой или косвенной деятельности человека. Эти виды классифицируются по времени иммиграции, способу иммиграции и степени натурализации (Виноградова, Майоров, 2010). В середине XX века с целью улучшения водоснабжения полуострова были предприняты широкомасштабные работы по облесению крымских яйл, и к 70-м годам лесокультура занимала здесь уже около 3000 га. Было испытано более 50 видов древесных и кустарниковых растений, в том числе такие высокомикотрофные виды, как *Pinus silvestris* L. (70% всех посадок), *Betula pendula* Roth, *Larix sibirica* Ledeb., *Picea orientalis* (L.) Peterm., *Populus tremula* L. (Багрова, Гаркуша, 2009). В результате в составе древесных растений яйл появились, виды, не свойственные природной флоре Крыма. В данной публикации мы рассмотрим виды симбиотрофных макромицетов, ассоциированные с не свойственными крымской флоре *Betula pendula* и *Larix sibirica*, а также микосимбиоты *Pinus* spp., не встречающиеся в других высотных поясах растительности Горного Крыма. Ранее рассматривались заносные виды сапротрофных макромицетов в различных биотопах Южного бережья Крыма (Саркина, Багрикова, 2017). Вопрос о заносном характере симбиотрофов рассматривается впервые.

В сообществах лесокультуры березы (чистых и смешанных с сосной) были зарегистрированы 6 видов:

***Amanita muscaria* (L.) Lam.** Космополит. Микосимбионт березы, сосны, ели, пихты и некоторых других древесных растений. Обычный вид в хвойных и лиственных лесах умеренного климата Северного полушария, нередок в парках и лесопарках. В более теплых широтах (Гиндукуш, Средиземноморье, Центральная Америка) растет в горных местностях. За пределами естественного ареала (Австралия, Новая Зеландия, Южная Африка, Южная Америка) распространен в лесокультуре сосны. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская яйла, лесокультура березы и сосны, рассеянно, по 2–4 экз., 11.07.2010, 05.09.2012 (Саркина, Придюк, 2012).

***Lactarius necator* (Bull.) Pers.** Циркумбореальный вид, распространен в Европе, Азии, Северной Америке. Микосимбионт березы, растет повсеместно в районах ее произрастания — в березняках и смешанных лесах. Занесен в Австралию и Новую Зеландию. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская яйла, лесокультура березы, 20.09.2012, 18.10.2016, локально-массово (Саркина, 2018).

***Lactarius pubescens* Fr.** Циркумбореальный вид, обычен для умеренных широт. Микосимбионт березы, растет повсеместно в лесах с ее произрастанием. В Европе распространен преимущественно в северных регионах, а в южных предпочитает горные местности. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская яйла, лесокультура березы, 13.10.1991, 07–29.09.2002, 28.09.2006, локально-массово (Саркина, 2005, 2018; Саркина, Придюк, 2012).

***Lactarius torminosus* (Schaeff.) Gray.** Голарктический вид, распространенный в местах произрастания березы. Микосимбионт березы и ели. Обычен для умеренных широт. Встречается в городских культурфитоценозах с участием березы. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская яйла, лесокультура березы, 08.09.1996, 06.08.2003, локально, малыми группами (Саркина, Придюк, 2012).

***Leccinum scabrum* (Bull.) Gray.** Вид с циркумбореальным распространением. Микосимбионт березы, растет повсеместно в районах ее произрастания — в березняках и смешанных лесах. За пределами ареала (в Южном полушарии) встречается в лесокультуре. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская и Демерджи яйлы, лесокультура березы, 06.09.1996, 02.08.1997, 06.08.2003, 21.08.2004, 28.06.2006, 04.07.2010, рассеянно, группами, в отдельные годы локально-массово (Саркина, 2005, 2018; Саркина, Придюк, 2012).

***Leccinum versipelle* (Fr. & Hök) Snell.** Встречается по всей Европе, в Азии (Россия, Япония). Обычен в северной умеренной зоне, в России наиболее распространен в Европейской части и на Дальнем Востоке. Микосимбионт березы и ели. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская яйла, лесокультура березы, 28.09.2006, единично (Саркина, Придюк, 2012; Саркина, 2018).

В сообществах лесокультуры хвойных древесных растений зарегистрированы 3 вида:

***Hygrophorus gliocyclus* Fr.** Циркумбореальный вид. В Европе чаще встречается в южной части, предпочитает известковые почвы. Микосимбионт сосны и ели. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских

сообществах: Ай-Петринская и Ялтинская яйлы, лесокультура сосны, 16.10.1996, 02.10.1998, 29.09–30.10.2000, 14.10.2008, 19.10.2018, рассеянно, малыми группами (Саркина, 2005, 2008; Саркина, Придюк, 2012). В зональных сосновых лесах Крымского п-ова к настоящему времени не известен.

***Leucocortinarius bulbigus* (Alb. & Schwein.) Singer.** Голарктический редкий вид с дизъюнктивным ареалом. Встречается в хвойных и смешанных лесах, образует микоризу с сосной и елью. В Горном Крыму зарегистрирован только в яйлинских сообществах: Ай-Петринская яйла, лесокультура сосны, 09.09.2001 (Саркина, Придюк, 2012). В зональных сосновых лесах Крымского п-ова к настоящему времени не известен.

***Suillus grevillei* (Klotzsch) Singer.** Вид с циркумбореальным распространением. Обычен в лиственных или смешанных с лиственницей лесах Евразии и Северной Америки, встречается в парках, за пределами естественного ареала (Австралия, Новая Зеландия) растет в лесокультуре. Облигатный симбиотроф, образует микоризу с лиственницей, предпочитает кислые, богатые почвы. В горной части Крымского п-ова известны лишь единичные находки — исключительно в лесокультуре хвойных деревьев (сосны, кедра) с примесью лиственницы. На Ай-Петринской яйле *S. grevillei* зарегистрирован под единичной лиственницей в лесокультуре сосны, 24.09.2003 (Саркина, Придюк, 2012; Саркина, 2017, 2018).

Таким образом, в микобиоте крымских яйл выявлено 9 видов симбиотрофных макромицетов, не зарегистрированных в других поясах растительности Горного Крыма. Природа существования этих видов в яйлинских сообществах двуедина. Их наличие обусловлено, с одной стороны, хозяйственной деятельностью человека, в частности искусственным облесением, что укладывается в рамки определения «адвентивный вид», а с другой — специфическими для Крыма природными условиями нагорных плато. Эти факторы способствуют естественному проникновению не свойственных для микобиоты полуострова видов. К заносным можно с уверенностью отнести 7 из них: *Amanita muscaria*, *Lactarius necator*, *L. pubescens*, *L. torminosus*, *Leccinum scabrum*, *L. versipelle* и *Suillus grevillei*. Они являются микосимбионтами не свойственных природной крымской флоре *Betula pendula* и *Larix sibirica* и были занесены при облесении крымских яйл в середине прошлого века. Натурализовавшимися можно считать *A. muscaria*, *L. necator*, *L. pubescens* и *L. scabrum*, которые образуют базидиомы с определенной периодичностью и относительно большой численностью. К настоящему времени нет достаточных оснований считать натурализовавшимися *Lactarius torminosus* и *Leccinum versipelle*, так как эти виды были зарегистрированы один-два раза в количестве менее 10 экземпляров.

Особое положение, на наш взгляд, занимает *Suillus grevillei*. Несмотря на то, что при оценке 40-летнего опыта мелиорации крымских яйл *Larix sibirica* была отнесена к числу видов, способных успешно произрастать в яйлинских условиях (Багрова, Гаркуша, 2010), к настоящему времени сохраняются лишь немногочисленные ее экземпляры. Вероятнее всего, *S. grevillei* может исчезнуть из локальной микобиоты с исчезнове-

нием лиственницы, для которой условия яйл оказались неблагоприятными.

Микосимбионты *Pinus* spp. *Hygrophorus gliocyclus* и *Leucocortinarius bulbiger* нельзя с уверенностью отнести к заносным, так как их наличие в микокомплексе яйл в значительной степени обусловлено особенностями гидротермического режима.

Список литературы

1. Ена В.Г., Ена Ал.В., Ена Ан.В. Краткий географический словарь Крыма. Симферополь: Бизнес-Информ, 2011. 264 с.
2. Саркина И.С. Микобиота крымский яйл: макромицеты // Грибы в природных и антропогенных экосистемах. Труды международной конф., посвященной 100-летию начала работы проф. А. С. Бондарцева в Ботаническом институте им. В. Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург, 24–28 апреля 2005 г.). Том. 2. СПб: Бостон-спектр, 2005. С. 169–173.
3. Саркина И.С. Грибы знакомые и незнакомые. Справочник-определитель грибов Крыма. 3-е издание. Симферополь: Бизнес-Информ, 2018. 488 с.
4. Саркина И.С., Придюк Н.П. Аннотированный список сумчатых и базидиальных макромицетов Ялтинского горно-лесного природного заповедника // Научные записки природного заповедника «Мыс Мартъян». 2012. Вып. 3. С. 45–82.
5. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. и соавт. Черная книга флоры Средней России. Чужеродные виды растений в экосистемах Средней России // М.: ГЕОС, 2010. 512 с.
6. Багрова Л.А., Гаркуша Л.Я. Искусственные лесонасаждения в Крыму. Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2009. Вып. 20. С. 134–145.
7. Саркина И.С., Багрикова Н.А. Заносные виды макромицеты на Южном берегу Крыма: макромицеты // Экосистемы. 2017. Вып. 11(41). С. 3–9.
8. Саркина И.С. Виды семейства Hygrophoraceae горных лесов Крыма // Современная микология в России. Том 2. Материалы 2-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2008. С. 86–87.
9. Саркина И.С. Виды рода *Suillus* Gray (Suillaceae) Крымского полуострова // Современная микология в России. Том 6. Материалы 4-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2017. С. 143–144.

НОВЫЕ НАХОДКИ РЕДКИХ ВИДОВ ГРИБОВ, НУЖДАЮЩИХСЯ В ОХРАНЕ В ЛИПЕЦКОЙ ОБЛАСТИ

Сарычева Л.А.

Воронежский государственный университет
Заповедник «Галичья гора»

Сохранение редких видов растений и гетеротрофных организмов в лесостепной зоне Европейской части России является одной из важнейших задач, т. к. в настоящее время растительный покров этой зоны подвергается интенсивной антропогенной трансформации. В Липецкой области, расположенной в лесостепной подзоне Восточноевропейской лесостепной провинции, общая площадь распаханых земель достигает 70% территории, естественные растительные сообщества практически не сохранились и исключительно велика антропогенная нагрузка на особо ценные фитоценозы. Во второе издание Красной книги Липецкой области (2014) включен 41 вид грибов, что составляет 4% от видового состава макромицетов области. Еще 60 видов грибов вошли в список видов, нуждающихся в специальном исследовании и постоянном контроле в регионе. В настоящее время идет работа по подготовке третьего издания региональной Красной книги, в результате которой выявлены новые нуждающиеся в охране виды, данные о которых приведены ниже. В тексте приняты следующие сокращения: ВГПБЗ — Воронежский государственный природный заповедник, VGZ — гербарий ВГПБЗ, ЗГГ — заповедник «Галичья гора», КК — Красная книга, ЛО — Липецкая область, Сев. — северный, РФ — Российская Федерация. В скобках приведены номера образцов, хранящиеся в микологическом гербарии заповедника «Галичья гора».

Отдел Ascomycota Порядок Pezizales

Семейство Morchellaceae

Morchella crassipes (Vent.) Pers. — сморчок толстоножковый. Встречается в Западной и Центральной Европе, а также в Сев. Америке. Обитает в степной и лесостепной зонах на почве, богатой органикой. В ЛО известно одно местонахождение. Добринский р-н: у бывшей д. Наливкино, солонцы, противопожарная полоса близ насаждений тополя, единичная находка 14.05.2017 (№ 4861, № 4862).

Семейство Sarcoscyphaceae

Microstoma protractum (Fr.) Kanouse — микростома вытянутая. Распространен в Европе, Азии и Сев. Америке. В РФ отмечен в Европейской части, на Урале, в Сибири, включен в КК ряда регионов. В ЛО известно одно местонахождение. Добровский р-н: окр. с. Преображенковка, смешанный лес, на оголенной почве (старые апотеции), 25.04.2004 (№ 4930).

Отдел Basidiomycota Порядок Agaricales

Семейство Physalacriaceae

Rhodotus palmatus (Bull.) Maire — родот дланевидный. Распространен в Евразии, Сев. Америке, Сев. Африке и Японии. В РФ отмечен в Европейской части, на Кавказе и Дальнем Востоке, повсюду редок и включен в КК ряда регионов. Обитает в лиственных лесах, на валежных стволах деревьев, чаще на вязах, ксилосапротроф, служит индикатором малонарушенных зрелых широколиственных лесов. В ЛО известны 2 местонахождения. Усманский р-н: 1) ВГПБЗ, кв. 14, широко-

колиственный лес, на валежном стволе вяза, 7.06.2016 (№ 4678); 2) ВГПБЗ, кв. 374/375, на валежном стволе клена остролистного, на сырой гниющей древесине, 9.06.2016 (VGZ C-040).

Семейство Pleurotaceae

Pleurotus dryinus (Pers.) P. Kumm. — вешенка дубовая. Неморальный вид, встречается в Евразии, Сев. Африке, Сев. Америке, в пределах всего ареала редок. Включен в КК ряда регионов РФ. В ЛО известны 3 местонахождения. Задонский р-н: ЗГГ, ур. Морозова гора, дубрава, под корой валежного ствола дуба, 1.09.2015 (№ 4653). Краснинский р-н: 1) окр. с. Суходол, парк «Олений», по склону балки Суслиная, на стволе старовозрастного дуба, одиночная базидиома, 8.09.2015 (№ 4654); 2) окр. с. Яблоново, ур. Плющань ЗГГ, прибрежная часть, на отмирающем стволе клена американского, 10.09.2018 (№ 4911).

Семейство Tricholomataceae

Cantharellopsis prescotii (Weinm.) Kuypers — кантареллулопис Прескота. Распространен в Северном полушарии, в Европе, Казахстане. Включен в КК ряда регионов РФ. В ЛО одно местонахождение вида. Краснинский р-н, окр. с. Яблоново, ур. Плющань ЗГГ, склон северной экспозиции в ур. Хризантемовая поляна, на выходах известняка, среди мха, 15.09.2012 (№ 4502).

Порядок Boletales

Семейство Paxillaceae

Melanogaster bromeanus Berk. — меланогастер Брума. Космополит, распространен повсеместно, но встречается редко. Включен в КК ряда регионов РФ. Предпочитает лиственные леса, произрастает неглубоко в земле под лиственной, симбиотроф. В ЛО известно одно местонахождение. Лебедянский р-н: окр. с. Куликовка-2, посадки березы, в почве и на ее поверхности под растительной подстилкой, 8.09.2017 (№ 4891).

Порядок Geastrales

Семейство Geastraceae

Geastrum coronatum Pers. — звездовик корончатый. Распространен в Средней Азии, Восточной и Западной Европе, Сев. Америке, Австралии и Новой Зеландии. В РФ встречается в Европейской части, в Западной Сибири и на Кавказе, включен в КК ряда регионов. В ЛО известно одно местонахождение. Усманский р-н: Куликовский лес, окр. оз. Трещевка, на песчаной уплотненной почве, у дороги, 21.09.2015 (№ 4919).

Geastrum fornicatum (Pers.) Hook. — звездовик сводчатый. Распространен в Европе, Азии, Сев. Америке, Африке и Австралии. В РФ выявлен в Европейской части, на Сев. Кавказе и в Восточной Сибири, включен в КК ряда регионов. Встречается в сосновых и смешанных лесах, на хвойной подстилке и почве, небольшими группами, редко. В ЛО известно одно местонахождение. Усманский р-н: ВГПБЗ, кв. 128, опушка смешанного леса, на почве, группа из 7 плодовых тел, 8.10.2015 (№ 4918, сбор Печниковой О.А.).

Geastrum pectinatum Pers. — звездовик гребенчатый. В РФ распространен в Европейской части, Восточной Сибири и на Дальнем Востоке, включен в КК ряда регионов. В ЛО известно одно местонахождение. Добровский р-н: окр. с. Преображенковка, пойма р. Воронеж, под одиночным старовозрастным дубом, 8.08.2012.

Порядок Gomphales

Семейство Lentariaceae

Kavinia himantia (Schwein.) J. Erikss (*Hydnocristella himantia* (Schwein.) R.H. Petersen — кавиния кожисто-языковая. Распространен в Европе, Азии и Сев. Америке. В РФ встречается в Европейской части, на Сев. Кавказе, Урале, в Сибири и на Дальнем Востоке, включен в КК ряда регионов. Южный вид, распространен в лесной зоне северного полушария, приурочен преимущественно к широколиственным лесам, но всюду редок. Ксилосапротроф, развивающийся на сухостое и крупном валеже дуба, реже на коре других видов лиственных деревьев. В ЛО известны 2 местонахождения. Краснинский р-н: ур. Плющань ЗГГ, левый берег р. Плющань ниже истоков, на стволе ивы ломкой, 29.09.2016 (№ 4739). Елецкий р-н, ур. Воргольское ЗГГ, на древесине дуба, 1.10.2016 (№ 4703, 4706).

Порядок Polyporales

Семейство Meruliaceae

Climacodon septentrionalis (Fr.) P. Karst. — климакон северный. Редкий вид, распространен в Европе, Сев. Америке, Восточной и Средней Азии. В РФ выявлен в Европейской части, в Сибири, на Кавказе и Дальнем Востоке, включен в КК ряда регионов. Обитает в лиственных лесах, на живых и валежных стволах клена, осины и др., ксилотроф. Повсюду встречается спорадически и с небольшой численностью. В ЛО известно одно местонахождение. Усманский р-н: ВГПБЗ, кв. 108, дубняк с кленом остролистным и осиной, в 2014 г. пройденный низовым пожаром; на валежном обугленном стволе осины, 23.07.2015 (собр. Стародубцева Е.А., опр. Сарычева Л.А.).

Семейство Steccherinaceae

Metuloidea murashkinskyi (Burt) Miettinen & Spirin (*Steccherinum murashkinskyi* (Burt) Maas Geest.) — метулоид (стекхеринум) Мурашкинского. Встречается в Европе, Китае и Корее. В РФ отмечен в Западной Сибири, на Дальнем Востоке и Кавказе, в Европейской части страны встречается реже, включен в КК ряда регионов. В ЛО известно одно местонахождение. Краснинский р-н: ур. Плющань ЗГГ, левый берег р. Плющань ниже истоков, на валежном стволе ивы ломкой, 29.09.2016 (№ 4702).

Порядок Russulales

Семейство Russulaceae

Lactarius azonites (Bull.) Fr. — млечник беззонный. Евразийский вид широколиственных лесов, в пределах всего ареала является редким. Включен в КК ряда регионов РФ. Теплолюбивый вид, предпочитает карбонатные почвы, узкоспециализированный симбиотроф, образует микоризу с дубом. В ЛО обитает в остепненных разреженных дубравах, произрастающих на крутых склонах. Известно одно местонахождение. Краснинский р-н: 1) окр. с. Суходол, парк «Олений», по склону оврага «Писаревский Верх», дубрава, в основании ствола старовозрастного дуба, 22.07.2015 (№ 4649); там же 26.08.2016 (№ 4688).

Lactarius mairei Malençon — млечник Мэра. Неморальный вид, распространен в лесах Европы, Сев. Африки, Юго-Западной Азии, в пределах ареала редок. Вид внесен в Красные списки ряда европейских стран, в России не охраняется. В ЛО известно 2 местонахождения. Краснинский р-н: окр. с. Суходол, парк «Оле-

ний», склон балки «Писаревский Верх», под старовозрастным дубом, 6.09.2016 (№ 4697). Становлянский р-н: 4 км к западу от с. Мещерка, байрачная дубрава, левобережный склон балки, под старовозрастным дубом, 20.09.2012.

Помимо перечисленных видов, рекомендованных для Липецкой области в официальные списки редких и нуждающихся в охране, нами выделена группа грибов, включающая виды макромицетов, для которых известны единичные находки. К настоящему времени о распространении и состоянии их популяций недостаточно информации и для определения их статуса необходимы дальнейшие исследования.

Семейство Paxillaceae

Phyllotopsis nidulans (Pers.) Sing. — вешенка оранжевая, филлотопсис гнездящийся. Вид широко распространен в районах с умеренным климатом в Сев. Европе и Европейской части России, а также в Сев. Америке. Включен в КК ряда регионов РФ. В ЛО одно местонахождение. Краснинский р-н: окр. с Яблоново, памятник природы «Низовье реки Плющань», левобережный склон ниже истоков р. Плющань, нагорная дубрава с участием березы, на валежном стволе березы, 20.09.2013 (№ 4561).

Семейство Cortinariaceae

Cortinarius rufoolivaceus (Pers.) Fr. — паутинник рыже-оливковый. Вид широко распространен в Европе, но встречается редко, включен в КК ряда европейских стран. В ВФ отмечен в европейской части и на юге России. Встречается в широколиственных лесах, симбиотроф, избирателен к субстрату. В ЛО известны 3 местонахождения. Краснинский р-н: окр. с Яблоново, ур. Плющань ЗГГ, левый берег р. Плющань ниже истоков, разреженный участок дубравы на средней части склона, под лещиной, 15.09.2012 (№ 4470). Елецкий р-н: окр. с Шаталовка, широколиственный лес, 18.09.2012 (№ 4493). Становлянский р-н: в 4 км к западу от с. Мещерка, байрачная дубрава, на склоне балки, 20.09.2012 (№ 4504).

Таким образом, в официальные списки редких видов грибов Липецкой области, нуждающихся в охране, рекомендовано внести дополнительно 14 видов грибов и еще 2 включить в мониторинговый список видов, нуждающихся в регионе в специальном исследовании и постоянном контроле.

Список литературы

1. Красная книга Липецкой области. Растения, грибы, лишайники. — Изд. 2-е, перераб. / под ред. А.В. Щербакова. — Липецк, 2014. — 696 с.

БАКТЕРИИ ИЗ МИКСОМИЦЕТОВ СТИМУЛИРУЮТ РОСТ КСИЛОТРОФНЫХ ГРИБОВ

Широких А.А., Попыванов Д.В.

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока, Киров

В естественных экосистемах грибы активно вступают в различные взаимоотношения с бактериями. Диапазон этих взаимоотношений широк, простирается от выраженного антагонизма до мутуализма. При совместном росте ксилотрофного базидиального гриба *Lentinus edodes* с PGPR-бактерией *Azospirillum brasilense* было показано, что сокультивирование приводит к стимуляции мицелиального роста и снижению контаминации шиитаке (Никитина и др., 2006), отмечены положительные сдвиги в углеводном и жирнокислотном составе грибного мицелия (Лощинина и др., 2012). Одним из механизмов бактериального влияния на грибной рост авторы считают продукцию индольных соединений (Панкратова и др., 2011). Обладающие такими свойствами бактерии могут при искусственном культивировании стимулировать мицелиальный рост грибов, способствовать повышению выхода биомассы, а также ограничивать развитие контаминантов грибной культуры (Sysuev et al., 2008).

Целью исследования являлись поиск, выделение и выявление бактерий, способствующих росту мицелия и формированию плодовых тел при искусственном культивировании ксилотрофных базидиомицетов с хозяйственно ценными свойствами.

В работе использовали культуры съедобных грибов: 1) зимний опенок (*Flammulina velutipes* ФАНЦ 19), изолированный из плодового тела, собранного в дендрарии ФАНЦ Северо-Востока; 2) ежовик гребенчатый (*Hericium erinaceus* ВР16), выделенный в чистую

культуру из плодового тела, найденного в Беловежской пушче на стволе дуба; 3) ценный лекарственный гриб трутовик лакированный (*Ganoderma lucidum*), штамм которого был получен из коллекции Института биотехнологии провинции Цзилинь (КНР). Природные изоляты были идентифицированы на основании анализа нуклеотидных последовательностей ITS1 5,8S рибосомальной РНК. Нуклеотидная последовательность *Hericium erinaceus* ВР16 включена в базу NCBI под номером МК809367.

Поиск бактерий с микорегуляторными свойствами проводили среди культур, выделенных из спорокарпов грибоподобных протистов — миксомицетов, которые наряду с высшими грибами, обитают в лесных биоценозах на разлагающейся древесине. Из поверхностно стерилизованных спорокарпов *Lycogala epidendrum*, *Trichia decipiens*, *Metatrachia vesparia* и *Hemitrichia serpula* на минеральном агаре с 1% метанола изолировали 80 культур бесцветных и пигментированных бактерий, среди которых далее были отобраны пять изолятов, способных к синтезу ИУК и стимуляции роста растений. На основании анализа фрагмента гена 16S рРНК, пигментированные розово окрашенные штаммы, были идентифицированы как *Methylobacterium bullatum* (56L, 55L). Непигментированные изоляты бактерий из спорокарпов *T. decipiens*, *M. vesparia* и *H. serpula* были идентифицированы как *Pedobacter agri* 85Td, *Ewingella americana* 66Mt и *Arthrobacter humicola* 30Ht соответственно.

Оценку влияния бактерий на мицелиальные культуры грибов проводили *in vitro* методом агаровых блоков. Культуры бактерий выращивали на агаризированной питательной среде RHM (Belimov, Dietz, 2000), культуры грибов — на сусло-агаре. На сусло-агар в центр чашки помещали агаровый блок с мицелием гриба, а вокруг него, по периферии чашки раскладывали агаровые блоки с биомассой пяти различных бактерий. Инкубацию вели в течение 25 суток при температуре 28°C.

В результате скрининга выявили штаммы бактерий, способные стимулировать рост мицелия и плодовых тел базидиомицетов, а также бактерии, оказавшие на грибы угнетающее действие. Так, выраженный стимулирующий эффект на рост мицелия всех исследуемых грибов оказала бактерия *Arthrobacter humicola* 30Ht. Вокруг блока с биомассой артробактера наблюдали активный рост мицелия всех исследуемых грибных культур, а у трутовика лакированного и ежовика гребенчатого отмечено также формирование примордиев и плодовых тел. Штаммы *M. bullatum* 56L и 55L также оказывали на рост мицелия зимнего опенка и трутовика лакированного стимулирующее действие. К 20-м суткам вокруг блоков с биомассой метиловых бактерий наблюдали образование примордиев. Ежовик гребенчатый, хотя в течение первых 10 суток испытывал незначительное угнетающее действие штамма 55L, но к концу инкубации тоже сформировал примордии вокруг блока с *M. bullatum* 55L. Стимуляцию роста мицелия и образование примордиев, вероятно, можно объяснить синтезом бактериями соответствующих метаболитов, в частности индолных соединений.

Два бактериальных изолята — *E. americana* 66Mt и *P. agri* 85Td проявили сильный антагонизм по отношению к съедобным грибам *F. velutipes* ФАНЦ 19 и *H. erinaceus* ВР16. Вокруг агаровых блоков с этими бактериями образовывались стерильные зоны вследствие угнетения роста грибного мицелия. Ранее сообщалось, что *E. americana* способна вызывать болезнь «коричневых пятен» у шампиньонов (Inglis et al. 1996, Madbouly et al., 2014), массовые поражения плодовых тел *F. velutipes* на грибных фермах (Liu et al. 2018). Недавние исследования показали, что бактерии родов *Ewingella* и *Pedobacter* входят в состав микробных сообществ, разрушающих мицелий базидиомицетов. Установлено, что в начальной стадии в сообществах преобладают *E. americana* и *Pseudomonas* sp. Представители рода *Pedobacter* и ряд других бактерий включаются в разложение мицелия на более поздних этапах, хотя и обладают широким спектром ферментов (Brabcová et al., 2016).

Несмотря на сильное ингибирующее действие бактерий *E. americana* 66Mt и *P. agri* 85Td в отношении зимнего опенка и ежовика гребенчатого, реакция гриба *G. lucidum* на присутствие этих бактерий была положительной. Вокруг агаровых блоков с биомассой не только не отмечено угнетения роста мицелия, но даже наблюдалось образование примордиев, что говорит о стимулирующем влиянии штаммов *E. americana* 66Mt и *P. agri* 85Td на ганодерму. Вероятно, *G. lucidum* способна вступать в мутуалистические отношения с этими бактериями. Ранее уже сообщалось об обнаружении бактерий рода *Pedobacter* в составе ассоциаций с грибом *Tricholoma matsutake*, однако экологическая

роль этих бактерий до сих пор не совсем ясна (Li et al., 2016). По мнению некоторых исследователей, бактерии рода *Pedobacter* способны к расщеплению целлюлозы и гемицеллюлозы, что позволяет им формировать с некоторыми ксилотрофными грибами синтрофные ассоциации (López-Mondéjar et al., 2016). Возможно, этим и объясняется отсутствие антагонизма со стороны *E. americana* 66Mt и *P. agri* 85Td к *G. lucidum*.

Таким образом, в результате изучения характера попарных взаимодействий трех ксилотрофных базидиальных грибов и пяти выделенных из миксомицетов бактериальных культур установлены потенциальные партнеры для формирования искусственных бактериально-грибных ассоциаций, которые могут использоваться в технологиях культивирования съедобных и лекарственных грибов.

Список литературы

1. Никитина В.Е., Цивилева О.М., Лощинина Е.А. Взаимоотношения ксилотрофных базидиомицетов и почвенных азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* // Успехи медицинской микологии / под общ. науч. ред. акад. РАЕН Ю.В. Сергеева. М.: Национальная академия микологии. 2006. Т. VII. С. 293–294.
2. Лощинина Е. А., Цивилева О. М., Макаров О. Е., Никитина В. Е. Изменения углеводного и жирнокислотного состава мицелия *Lentinus edodes* при совместном культивировании *Azospirillum brasilense* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2(3). 2012.
3. Панкратов А. Н., Лощинина Е. А., Цивилева О. М., Макаров О. Е., Юрасов Н. А., Никитина В. Е. Выявление участия индола в ростовых и метаболических процессах мицелиального гриба // Изв. Саратовского университета. Сер. Химия. Биология. Экология. 2011. 11(2) С. 54–59.
4. Sysuev V.A., Shirokikh A.A., Shirokikh I.G. Development of biotechnological approaches to basidiomycetes cultivation // China-Japan Pan Asia Pacific Mycology Forum. Symposium. Changchun China. July. 2008. P. 175.
5. Belimov, A.A., Dietz, K.J., Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations // Microbiological research. 2000. 155(2). P. 113–121.
6. Inglis P. W., Burden J. L., Peberdy J. F. Evidence for the association of the enteric bacterium *Ewingella americana* with internal stipe necrosis of *Agaricus bisporus* // Microbiology. 1996. 142 (11). P. 3253–3260.
7. Madbouly A. K., El-Shatoury E. H., Abouzeid M. A. Etiology of stipe necrosis of cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) in Egypt // Phytopathologia Mediterranea. 2014. P. 124–129.
8. Liu Z. H., Sossah F. L., Li Y., Fu Y. P. First report of *Ewingella americana* causing bacterial brown rot disease on cultivated needle mushroom (*Flammulina velutipes*) in China // Plant disease. 2018. 102(12). P. 2633–2633. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0351-PDN>
9. Brabcová V., Nováková M., Davidová A., Baldrian P. Dead fungal mycelium in forest soil represents a decomposition hotspot and a habitat for a specific

- microbial community // *New Phytologist*. 2016. 210(4). P. 1369–1381. <https://doi.org/10.1111/nph.13849>
10. Li Q., Chen C., Penttinen P., Xiong C., Zheng L., Huang W. Microbial diversity associated with *Tricholoma matsutake* fruiting bodies // *Microbiology*. 2016. 85(5). P. 531–539.
11. López-Mondéjar R., Zühlke D., Becher D., Riedel K., Baldrian P. Cellulose and hemicellulose decomposition by forest soil bacteria proceeds by the action of structurally variable enzymatic systems // *Scientific reports*. 2016. 6. P. 25279. <https://doi.org/10.1038/srep25279>

ОСОБЕННОСТИ СИМБИОЗА ОРХИДНЫХ С ГРИБАМИ

Сытников Д.М.¹, Шейко Е.А.²

¹Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Биотехнологический научно-учебный центр, Украина

²Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь

Несмотря на чрезвычайное таксономическое, генетическое и структурно-функциональное разнообразие растительно-микробных взаимодействий, их характеризует историческая преемственность, позволяющая рассматривать разные формы симбиоза как компоненты единого эволюционного континуума. Его анцестральной формой признана арбускулярная микориза (АМ), возникшая на заре эволюции наземной флоры и ставшая одним из основных факторов колонизации растениями суши. В процессе эволюции АК у растений сформировались генные системы, регулирующие жизнедеятельность микроорганизмов в корнях. Впоследствии эти системы многократно перестраивались по мере вовлечения в орбиту взаимодействий новых мутуалистических симбионтов, а также фитопатогенов [1].

Жизненный цикл растений осуществляется в тесном контакте с микроорганизмами, которые либо угнетают развитие хозяина (антагонизм), либо стимулируют его (мутуализм). Мутуалистические симбиозы подразделяют на трофические и защитные. Развитие трофических симбиозов с микроорганизмами рассматривается как древнейшая функция корней, которая в процессе эволюции могла быть дополнена или замещена функцией самостоятельного усвоения питательных веществ из почвы. Исходя из того, что древнейшие наземные растения, по-видимому, являлись облигатными микотрофами, логично предположить, что поддержание микробных грибов могло быть более древней функцией корней, чем самостоятельное усвоение питательных веществ из почвы. Для дальнейшей эволюции растений была характерна тенденция к ослаблению зависимости от микобионтов, связанная с развитием ассимиляционной функции корней и переходом растений на усвоение минеральных удобрений. Однако у наземных орхидных переход к самостоятельному корневному питанию так и не стал полным, что обусловило развитие новых симбиозов с грибами, образующими орхидную микоризу. Орхидные дают пример крайней зависимости от симбиоза: некоторые из них, в частности *Neottia nidus-avis*, относятся к мико-гетеротрофам, утратившим фотосинтез и получающим весь углерод от грибов. Происхождение этих форм представляется парадоксальным, поскольку орхидные отказались не только от фототрофного питания, но и от самостоятельного эмбрионального развития. Представители

семейства *Orchidaceae* формируют большое количество мелких семян с редуцированным зародышем [2, 3]. Для развития таких зародышей необходимо наличие гриба-симбионта.

Успешность такой адаптивной стратегии орхидных не вызывает сомнений: она доказана многочисленностью видов (23000–35000 видов) и процветанием их мико-гетеротрофных представителей. Источниками углерода, который микробные грибы поставляют нефотосинтезирующим орхидеям, обычно являются другие растения, с которыми гриб образует эктомикоризные или паразитарные системы. Это позволяет рассматривать орхидеи как организмы, паразитирующие не на грибах, а на растительно-грибных симбиозах благодаря имитации симбиотической функций растений, образующих АМ или эктомикоризу. Установление подобных отношений может приводить к перераспределению углерода в фитоценозах, что обеспечивает их высокую стабильность и разнообразие. По-видимому, в ходе коэволюции растений с грибами потоки питательных веществ, которыми они обмениваются, могли достаточно легко менять свое направление, обеспечивая равновесие партнеров на грани мутуализма и антагонизма [1].

Соотношения различных форм микробно-растительного взаимодействия долгое время изучали на примере грибных симбиозов, в эволюции которых происходила закономерная смена типов питания: от некротрофного к биотрофному. Однако есть и другая гипотеза, подразумевающая филиацию микроорганизмов, вступающих с хозяевами в отношения мутуализма либо антагонизма с переходом от биотрофии к некротрофии и далее к сапротрофии. В качестве примеров таких филиаций обычно рассматривают переходы некоторых патогенных грибов к образованию орхидной микоризы (*Rhizoctonia*). Стимулом такого перехода мог быть уход микобионтов от действия защитных систем хозяина, которые ограничивали их развитие и размножение.

Выводы. Способность к взаимодействию с микроорганизмами (грибами), выполняющими трофические или защитные функции, — фундаментальное свойство растительного организма, которое определяет его способность адаптироваться к широкому спектру биотических и абиотических факторов среды. У орхидных микросимбионтами являются различные грибы, в том

числе возбудители эктомикоризы и различных заболеваний корней. Растению передаются питательные вещества (в том числе углеводы) посредством гиф, колонизирующих клетки кортекса корня. Также грибы-симбионты стимулируют развитие зародыша орхидных.

Список литературы:

1. Проворов Н.А. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум // Журнал общей биологии. — 2009. — Т. 70 (№ 1). — С. 10–34.
2. Шейко Е. А., Сытников Д. М., Особенности симбиотических отношений некоторых видов орхидей с грибами-микоризообразователями // «Живые и биокосные системы». — 2017. — № 22; URL: <http://www.jbk.ru/archiv/issue-22/article-1>.
3. Шейко Е.А., Сытников Д.М. Внутривидовая гетероспермия отдельных видов орхидных // Вестник Одесского национального университета. Серия: Биология. — 2018. -Т. 23, вып. 2 (43). — С. 54–70.

ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ СОИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РИЗОБИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ И МИКОРИЗАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Умаров Б.Р.

Узбекский государственный университет мировых языков, кафедра естественных наук, Ташкент

Для повышения урожайности у бобовых растений, важное значение имеют взаимодействие клубеньковые бактерии и микоризальные грибы. Клубеньковые бактерии вступают в симбиоз с бобовыми растениями и имеют характерную специфичность — свойство образовывать клубеньки. Наибольшая специфичность характерна для эволюционно продвинутых бобовых из умеренных широт.

Микоризные грибы размножаются на корнях растений и распространяются в окружающую почву в виде большой массы абсорбирующих нитей, увеличивая поглощение растением воды и питательных веществ. Эти нити более чем на порядок тоньше корневых волосков и поэтому способны проникать в тончайшие поры почвенных минералов, которые имеются даже в каждой отдельной песчинке. Нити грибов постепенно разрушают почвенные минералы, добывая из них минеральные элементы питания растений, которые не находятся в почвенном растворе, в том числе такой важный элемент как фосфор. Микориза бывает внутренняя (эндомикориза), когда гифы гриба попадают под кору корня и формируют сеть в корне. Бывает и внешняя микориза (эктомикориза), когда гифы гриба не проникают в корень, а оплетают его снаружи.

При исследовании взаимодействия растения сои с клубеньковыми бактериями и микоризальными грибами произрастающих на территории Института генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан, были выявлены симбиоз сои с бактериями рода *Brayrhizobium japonicum*, *Sinorhizobium fredii* и АМ (Арбускулярными микоризальными грибами).

Целью работы являлись применение различных микробных препаратов при моно- и двойной инокуляции семян и изучение их влияния на основные показатели продуктивности растений сои.

Материалом для исследований послужил образец сои (*Glycine max L.*) сорт Генетик–1, из коллекции лаборатории частной и прикладной генетики растений Института генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан. Штаммы *B. japonicum* и *S. fredii* были выделены нами ранее из

клубеньков сои. Арбускулярная микориза (АМ) была получена из Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (Россия), ранее микоризовавшая корни люцерны.

Микровеgetационные опыты проводились в тепличных условиях в лаборатории токсикологической генетики в 2012–2014 гг. в специальных комнатах искусственного климата при температуре воздуха днем 27–30 °С, ночью 20±3 °С и относительной влажности воздуха 50%. Интенсивность освещения составила 200 Вт/м² при 16-часовом фотопериоде. Семена растения сои для микровеgetационных опытов перед посевом стерилизовали серной кислотой до 5 минут, промывали стерильной водопроводной водой до pH 7,0. Стерильные семена помещали в чашку Петри, содержащую 1% агара для поддержания влажности, и далее помещали в термостат при температуре 28 °С на 2–3 дня. Всходы растений по 2 штуки высаживали в стеклянную пробирку размером 3×25 см, заполненную на 1/3 стерильным вермикулитом, и выращивали в течение 35–40 дней в 6-кратной повторности.

Веgetационные опыты проводили в пластмассовой посуде объемом 10л, заполненной стерильным речным песком, со свободным проходом жидкой среды. Стерилизацию речного песка проводили в автоклаве при давлении равном 1 атм., в течение 30 мин. Стерилизацию семян сои проводили так, как было приведено выше. Проростки по 4 штуки сажали в отдельные сосуды, опыты проводили в следующем порядке: 1) контроль (без внесения микроорганизмов); 2) растения, инокулированные клубеньковыми бактериями штаммами *B. japonicum* и *S. fredii*. 3) почва, содержащая почвенно-корневые смеси из-под микоризованной люцерны из расчета 15 г под каждое семя; 4) растения, инокулированные двумя микроорганизмами (клубеньковая бактерия + АМ). Все опыты проводились в трехкратной повторности.

В качестве питательной среды для выращивания растений использовали среду Hoagland D.R [1], имеющую все необходимые минеральные вещества. При орошении принимали в расчет то количество раствора, которое необходимо для набухания почвы.

Технику закладки полевого опыта проводили по методике Б.А. Доспехова [2], повторность четырехкратная. Общая плотность делянки 34 м², учетная — 10 м², размещение вариантов — систематическое. Норма высева — 0,9 млн шт. всхожих семян на гектар. Схема опыта: 1. *B. japonicum* и *S. fredii*.; 2. АМ; 3. *B. japonicum* и *S. fredii*. + АМ.

Структурный анализ растений проводили согласно методическим указаниям по изучению зерновых бобовых культур [4]. Статистическую обработку данных выполнили согласно Б.А. Доспехову [2].

Результаты и исследований. Эксперименты на стерильных микровегетационных опытах показали, что клубеньки на корнях растений в контрольных вариантах не сформировались, а в вариантах с инокуляцией со штаммом: 1. *B. japonicum* и *S. fredii*.; 2. АМ; 3. *B. japonicum* и *S. fredii*. + АМ клубеньки появлялись на 20-й день после всходов.

Вегетационные опыты составили 90–100 дней. Результаты исследования показали, что в контрольных вариантах клубеньки на корнях растений не сформировывались, а в вариантах с инокуляцией клубеньковыми бактериями и двойной инокуляцией клубеньки появлялись на 15–20 день после всходов. В фазе цветения они формировали грозди на корнях и большая часть клубеньков окрашивалась в розовый цвет. Активные клубеньки на корнях являются одним из показателей азотфиксирующей способности растений, поэтому нами была проведена оценка влияния бактериального удобрения в сочетании с различными обработками семян перед посевом на клубенькообразующую способность сои.

Максимальное положительное действие микробиологических препаратов на накопление биомассы равно 30,5 г. В варианте с предпосевным внесением в почву грибов арбускулярной микоризы масса растения составила в среднем 32 г и была на 15% выше по сравнению с контролем. При двойной инокуляции со

штаммом *B. japonicum* и *S. fredii* и грибами АМ масса растения в среднем составила также 33,4 г и была на 20% выше, чем в контроле. Об активности исследуемых штаммов судили по длине стебля, количеству биомассы растений, а также по количеству клубеньков, образованных на корнях растений. Эффективность симбиоза рассчитывалась сравнением значений азота в инокулированных растениях с контрольными вариантами, а также по содержанию белка в растениях и семенах. По количеству общего азота вычисляли содержание «сырого» белка, используя общепринятые коэффициенты (N×6,25). Применение штаммов *B. japonicum* и *S. fredii* способствует увеличению крупности семян в среднем на 10% по сравнению с контролем. При внесении в почву грибов АМ семенная продуктивность растений увеличивается в среднем на 40%. При использовании грибов арбускулярной микоризы масса 1000 семян увеличивается в среднем на 20%. Двойная инокуляция способствует повышению семенной продуктивности в среднем на 40% по отношению к контролю. Прибавка биомассы растений составили в среднем 20%, массы 1000 семян — 15%, семенной продуктивности — 35%. Масса 1000 семян сои в зависимости от вариантов опытов колебалась от 310,5–370,6 г.

В сельском хозяйстве АМ является естественной альтернативой внесению больших количеств удобрений, в первую очередь фосфорных (т. е. АМ выступает в качестве удобрения), и может быть использована для восстановления нарушенных естественных экосистем. Результаты инокуляции семян сои со штаммами клубеньковых бактерий и микоризальными грибами представлены в таблице 1. Данные влияния инокуляции семян сои микробиологических препаратов на массу 1000 семян и семенную продуктивность представлены в таблице 2.

В работах А.П. Кожемякина [3] представлены данные о способе инокуляции семян нута ризоторфином и биопрепаратами комплексного действия, что приводит к улучшению прибавки биомассы растений и семян.

Таблица 1 — Влияние инокуляции микробиологических препаратов на семена сои

	Масса растений, г	Прибавка массы растений к контролю, %	Число клубеньков 1 раст., шт.	Высота растений, м	Содержание белка в семенах, %
Контроль	27,8	-	-	0,40	22,5
<i>B. japonicum</i> и <i>S. fredii</i>	30,5	10	65	0,43	23,8
<i>B. japonicum</i> и <i>S. fredii</i> + АМ	33,4	20	45	0,44	25,0
*MED					
НСП 0,05	0,21	0,15	4,70	3,52	1,86
НСП 0,01	0,29	0,20	6,28	4,75	2,53

*MED — Minimal Essential Difference

Таблица 2 — Влияние микробиологических препаратов на массу 1000 семян и семенную продуктивность

Контроль		<i>B. japonicum</i> и <i>S. fredii</i>		<i>Arbuscular mycorrhiza</i>		<i>B. japonicum</i> и <i>S. fredii</i> + АМ	
масса 1000 семян, г	масса семян на 1 м ²	масса 1000 семян, г	масса семян на 1 м ²	масса 1000 семян, г	масса семян на 1 м ²	масса 1000 семян, г	масса семян на 1 м ²
310,5	50,7	345,0	80,2	370,3	89,8	370,6	89,0

НСП 0,05 = 42,02; НСП 0,01 = 57,04; MED 0,05 = 42,02 0,01 = 57,04

Донская М.В. с соавторами [4] опубликовали данные, что предпосевная инокуляция семян нута ризоторфином на основе производственного штамма клубеньковых бактерий *Mesorhizobium ciceri* 527 и двойная инокуляция (ризоторфин + АМ) оказывают существенное влияние на формирование симбиотического аппарата за счет формирования клубеньков, повышая их массу и нитрогеназную активность.

Полученные нами результаты дополняют опубликованные ранее результаты других авторов, а именно: что двойная инокуляция приводит к улучшению азотного и фосфорного питания растений.

Список литературы

1. Hoagland D.R. and Arnon D.I. The water — culture method for growing plants without soil. California Ag-

ricultural Experiment Station Circular, 1950, vol. 347, pp. 1–32.

2. Борис Александрович Доспехов Б.А. Планирование полевого опыта и статистическая обработка его данных: учеб. пособие для высш. с.-х. учеб. М.: Колос, 1972. — 207 с.
3. Кожемяков А.П., Тихонович И.А. Использование инокулянтов бобовых и биопрепаратов комплексного действия. Доклады Россельхозакадемии, 1998. — №6. — С. 7–10.
4. Донская М.В., Наумкина Т.С., Суворова Г.Н., Васильчиков А.Г., Глазков А.В., Наумкин В.В. Использование микробиологических препаратов для повышения эффективности симбиотических систем нута // Зернобобовые и крупяные культуры. 2013. №4 (7). — С. 37–42.

СОЗДАНИЕ ОХАРАКТЕРИЗОВАННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ С РАЗЛИЧНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ

Юрков А.П.¹, Крюков А.А.¹, Горбунова А.О.¹, Шишова М.Ф.², Родионов А.В.³

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

²Санкт-Петербургский государственный университет;

³Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

Общеизвестно, что арбускулярная микориза (АМ) является одним из древних симбиозов, за счет которого растения смогли завоевать сушу более 400 млн. лет назад. Исследование АМ затруднено в силу облигатного статуса АМ-грибов по отношению к растениям. В связи с этим даже таксономия АМ-грибов не установлена и в настоящее время дискутируется. По одним сведениям грибами, образующими АМ, следует считать грибы отдела *Glomeromycota* [1], а по другим — грибы подотдела *Glomeromycotina* отдела *Mucoromycota* [2]. Компромисс пока не найден [3]. Несмотря на слабое исследование АМ-симбиоза в сравнении с другими типами (например, бобово-ризобияльным и эктомикоризным) растительно-микробных взаимодействий, он является одним из ключевых элементов наземных экосистем. С одной стороны, вклад поглощения неорганического фосфора за счет АМ-гриба достигает 90–99% от всего количества фосфора необходимого растению-хозяину, а, с другой стороны, АМ-гриб получает от растения-хозяина 4–20% углеводов — продуктов фотосинтеза. Таким образом, соотношение углеводного метаболизма и фосфатного питания растения-хозяина во многом определяет формирование и развитие эффективной АМ. Процесс развития эффективного АМ-симбиоза тонко регулируются изменением гормонального статуса растения-хозяина [4]. В связи с вышесказанным актуальным направлением исследований является изучение механизмов, контролирующих развитие эффективной АМ, формируемой грибами с различной активностью.

С этой целью нашим коллективом проводится сбор новых изолятов АМ-грибов из различных регионов РФ. Впервые создается коллекция штаммов АМ-грибов,

охарактеризованных по ряду признаков: 1) морфология спор с идентификацией до вида; 2) секвенирование региона ITS2 с идентификацией до вида; 3) активность (показатели микоризации, фосфатазная активность) грибов; 4) симбиотическая эффективность грибов, рассчитанная по прибавке показателей продуктивности и содержания фосфора в растениях; 5) растительные и грибные гены (маркеры), характеризующие симбиотический потенциал АМ-грибов (выявление и оценка их экспрессии). Оценка симбиотической эффективности и активности проводится с использованием модельной высокоэффективной тест-системы, включающей быстроотзывчивую линию *MIS-1 Medicago lupulina* L. [4]. Для оценки параметров микоризации и определения типа АМ корни мацеруются и окрашиваются трипановым синим известным методом [5]. Параметры микоризации определяются методом световой микроскопии с использованием специальной компьютерной программы, разработанной Н.И. Воробьевым, А.П. Юрковым и Н.А. Проворовым [6]. Идентификация видов растений-хозяев проведен по наиболее актуальным определителям [7–8]. Сбор образцов проведен, как правило, из нетронутых экосистем как на северной границе зоны тайги — берегов Белого моря, так и в районах с высотной поясностью вплоть до альпийских лугов Северного Кавказа. Следует отметить, что имели место следующие особенности отбора проб на выделение АМ-грибов: 1) отобраны корни 1-го целого растения на 1 образец; 2) для отбора брали все корни растения, включая тонкие (<0,5 мм) без промывки, корни иных видов аккуратно удалены; 3) выбраны по возможности доминантные для анализируемого сообщества виды растений, образующие развитую АМ; 4) с

одной стационарной пробной площади взято в среднем 3 вида растений; 5) в случае наличия видов растений, не образующих АМ [9–10] или обладающих низкой микоризацией (встречаемость микоризной инфекции в корне — F ниже 10%), их исключали из списка на отбор изолятов АМ-грибов; 6) выделение из спор не проводилось в связи с тем, что последние, выделенные только что из естественной среды зачастую могут оказаться не относящимися к АМ-грибам, что показали наши многолетние исследования при выделении спор в градиенте сахарозы; 7) выделение из корней с F ниже 10% не проводилось, т. к. дальнейшее поддержание таких изолятов АМ-грибов на культуре *Plectranthus australis* R.Br. на почво-песчаной смеси с низким уровнем доступного фосфора, как показали исследования, практически невозможно.

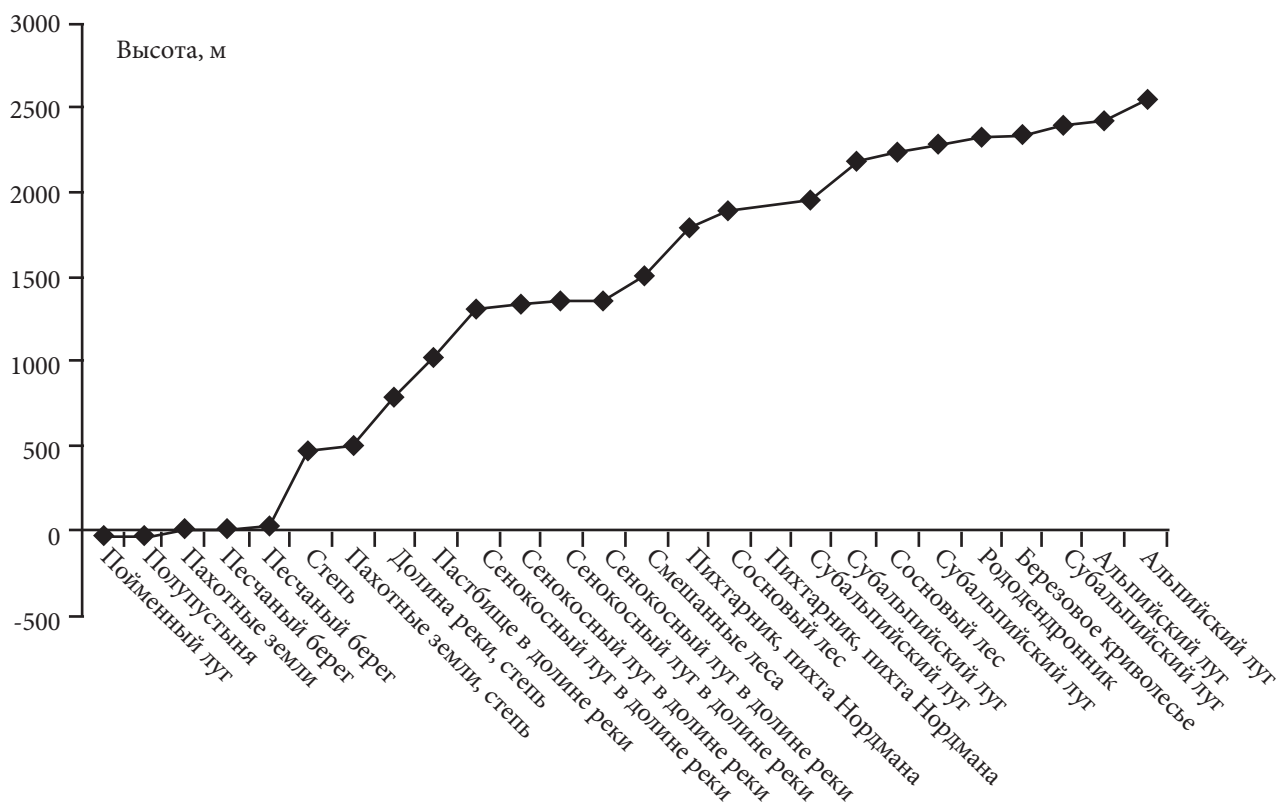
В результате работы выделены изоляты АМ-грибов из корней следующих видов растений (ранжирование по росту числа изолятов): вика тонколистная (*Vicia tenuifolia*; 1 изолят); мышиный горошек (*Vicia crassa*; 2 изолята); вика субальпийская (*V. tenuifolia* Roth subsp. *subalpina* Grossh.; 2 изолята); козлятник восточный (*Galega orientalis*; 2 изолята); лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus*; 2 изолята); клевер луговой (*Trifolium pratense*; 3 изолята); солодка голая (*Glycyrrhiza glabra*; 3 изолята); разнотравье (субальпика; 4 изолята); люцерна хмелевидная (*Medicago falcata*; 4 изолята); земляника лесная (*Fragaria vesta*; 4 изолята); кукуруза сахарная (*Zea mays*; 4 изолята); люцерна хмелевидная (*M. lupulina*; 5 изолятов); вика заборная (*V. sepium*; 6 изолятов); люцерна посевная (*M. sativa*; 7 изолятов); кислица обыкновенная (*Oxalis acetosella*; 9 изолятов); клевер ползучий (*T. repens*; 14 изолятов); манжетка мелкоцвет-

ковая (*Alchemilla minusculiflora*; 14 изолятов); клевер сомнительный (*T. ambiguum*; 16 изолятов). В 2019 году проведен сбор и посев 102 новых изолятов, собранных на всех высотных поясах от –39 м Прикаспийской низменности до +2540 м альпийских лугов горы Донбай (Рисунок). АМ выявлена более чем в 95% случаев. Пробы без АМ в корнях для изоляции не отбирались. Наименьшая микоризация ($F \sim 10\%$) отмечалась в пробах корней из почвы с высокой плотностью и температурой (пос. Садовое близ г. Черкесска).

Для морфологической идентификации АМ-грибов используется более 20 признаков [3; 11–13]: цвет, прозрачность, размер и форма внекорневых спор; цвет, размер, прозрачность, плотность, форма и расположение спорокарпа; форма места прикрепления спор к гифам; количество, толщина, плотность, эластичность, хрупкость, цвет в растворах (раствор Мельцера, раствор поливиниллактоглицерина, раствор трипанового синего и др.) слоев оболочек споры и несущей гифы; наличие / отсутствие / исчезновение / появление слоев оболочки спор и несущих гиф в процессе онтогенеза (от ювенильных спор до зрелых); наличие / отсутствие перегородки — септы в месте прикрепления спор к гифам; структурные характеристики внутрикорневых структур, формируемых АМ-грибом; описание процесса прорастания спор. Нами была оптимизирована методика морфологической и молекулярно-генетической идентификации АМ-грибов [14].

Таким образом, впервые в России создана и пополняется коллекция грибов АМ, охарактеризованная по признакам симбиотической эффективности и активности, а также по морфологическим признакам спор и с применением молекулярно-генетических методов. По

Рисунок — Тип экосистем и высота отбора изолятов АМ-грибов



результатам секвенирования Illumina MiSeq проб почвы и корней, выделенных в Тебердинском заповеднике и на сопредельных территориях, планируется оценка биоразнообразия АМ-грибов.

Работа выполняется при поддержке гранта РФФИ-МК №19-29-05275 (пополнение коллекции АМ-грибов новыми изолятами, их идентификация, подбор регионов баркодирования), грантов РФФИ-а №18-016-00220 и №20-016-00245 (подбор генетических маркеров симбиотической эффективности АМ-грибов фосфорного и углеводного метаболизма, соответственно). Часть работы выполнена на оборудовании ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Список литературы

- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 2001, 105 (12): 1413–1421.
- Spatafora JW, Chang Y, Benny GL et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia.* 2016, 108(5): 1028–1046.
- Schüßler A. Glomeromycota species list, 2019, available at http://www.amf-phylogeny.com/amphylo_species.html.
4. Yurkov AP, Veselova SV, Jacobi LM et al. The effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* on cytokinin content in highly mycotrophic *Medicago lupulina* line under low phosphorus level in soil. *Plant Soil Environ.* 2017, 63 (11): 519–524.
5. Phillips JM, Hayman DS. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transact. British Mycor. Soc.* 1970, 55: 158–161.
6. Воробьев НИ, Юрков АП, Проворов НА. Программа вычисления индексов микоризации корней растений. Свид. о гос. рег. №2016612112 от 18.02.2016. М.: ФИПС, 2016.
7. Зернов АС, Алексеев ЮЕ, Онипченко ВГ. Определитель сосудистых растений Карачаево-Черкесской Республики. М.: КМК, 2015.
8. Зернов АС. Флора Северо-Западного Кавказа. М.: КМК, 2006.
9. Smith SE, Read DR. *Mycorrhizal Symbiosis* (3rd ed.). San Diego: Academic Press. 2008.
10. Cosme M, Fernández I, Van der Heijden MGA, Pieterse CMJ. Non-Mycorrhizal Plants: The Exceptions that Prove the Rule. *Trends Plant Sci.* 2018, 23(7): 577–587.
11. Schenck NC, Pérez Y. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi.* 3rd ed. Gainesville, FL: Synergistic Publications, 1990.
12. Blaszkowski J. Species descriptions and illustrations, 2019, available at <http://www.zor.zut.edu.pl/>.
13. INVAM. Species descriptions from reference cultures, 2019, available at <http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions.html>.
14. Kryukov AA, Gorbunova AO, Machs EM, Mikhaylova YV, Rodionov AV, Zhurbenko PM, Yurkov AP. Perspectives of using Illumina MiSeq for identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2020. Open Access. P. 1–10. DOI: 10.18699/vj19.38-o.

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА «ГРИБОКОРЕНЬ» НА РОСТ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ

Курамышина З.М., Юсупова Р.А.

Стерлитамакский филиал Башкирского Государственного университета

Арбускулярные микоризные грибы образуют симбиозы с корнями около 80 % всех видов растений. Микоризы — это мутуалистические ассоциации, существующие между грибами и большинством наземных растений. Грибы арбускулярной микоризы могут создавать сверхрадикальные мицелии, которые распространяются за пределы корней, чтобы обеспечить доступ к воде и минеральным компонентам почвы для растений-хозяев. Грибы получают растительные углеводы для завершения своего жизненного цикла. Везикулярно-арбускулярные грибы могут дополнять или заменять химические удобрения для культур в различных условиях окружающей среды.

Известно, что ассоциации с арбускулярной микоризой уменьшают повреждения, вызываемые почвенными патогенами растений. Эта способность арбускулярной микоризы может быть использована в сотрудничестве с другими ризосферными микробными антагонистами для улучшения роста и здоровья растений. Показано, что микоризные грибы уменьшают стресс, вызванный неблагоприятными факторами

внешней среды и повышают устойчивость к различным болезням. Арбускулярные микоризные грибы значительно повышают выживаемость растений, биомассу побегов и увеличивают поглощение фосфора.

Целью данного исследования было изучение влияния биопрепаратов на основе микоризных грибов («Грибокореень»). Объектом исследования служили сельскохозяйственные растения: горох посевной (*Pisum sativum*) сорт Чижминская 95, лук репчатый (*Allium cepa* L.), пшеница мягкая (*Triticum aestivum*) сорт Омская 35.

Эксперимент проводили в лабораторных условиях. Семена высеивали в ящики с почвой. В качестве субстрата для выращивания растений использовали чернозем выщелоченный. Предварительно из него удаляли посторонние включения, корни растений, разрушали крупные комки. Воздушно-сухую почву загружали в пластиковые сосуды. Для этого вначале насыпали часть почвы и раскладывали семена, затем засыпали остатком почвы слоем 1–1,5 см. В соответствующих контрольных вариантах семена и растения обрабатывали

водой. Через 60 дней растения вместе с корневой системой осторожно удаляли из почвы. Корневую систему отделяли, промывали в проточной воде и взвешивали. Гистохимический анализ и количественный учет везикулярно-арбускулярной микоризы в корнях проводили по методу Травло. Корни после промывки осветляли в растворе 10%-ного КОН, затем промывали, переносили в 2%-ный раствор НСЛ и окрашивали трепановым синим. При определении степени колонизации микоризы использовали стандартную технику световой микроскопии окрашенных корней. Фрагменты рассматривали под микроскопом «Микмед-2» («ЛОМО», Россия).

Колонизацию микоризой оценивали в соответствии с классами, далее результаты обрабатывали при помощи компьютерной программы «Mycocalc». Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных программ пакета Microsoft Excel.

В результате проведенных исследований было выявлено, что внесение препарата «Грибокорень» способствует стимуляции роста и биомассы всех трех исследованных сельскохозяйственных культур (пшеницы, лука, гороха). Наиболее отзывчивой культурой на применения данного вида удобрения оказался горох, менее отзывчивой — пшеница.

Глава 8.

Дереворазрушающие грибы

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.08

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Антипов Д.И., Мелькумов Г.М.
Воронежский государственный университет

Дереворазрушающие грибы составляют ключевую группу биодеструкторов древесины, обеспечивающих процесс деструкции и гумификации растительного опада и непрерывность круговорота веществ и трансформации энергии в природных экологических системах (Бондарцев, 1953; Частухин, Николаевская, 1969; Степанов, Мухин, 1979; Бутова, 1986; Бондарцева, 2000 и др.).

Сбор материала осуществлялся в весенне-летний периоды 2019 года. Идентификация видов дереворазрушающих грибов осуществлялась с помощью российских и зарубежных литературных источников (Бондарцев, 1953; Бондарцева, Пармасто, 1986; Parmasto, 1988; Змитрович, 2008; Волобуев, 2015 и др.). Названия таксонов приведены в соответствии с базой данных Интернет-ресурса CABI Bioscience Database — <http://www.mycobank.org> (по состоянию на 15.02.2020) и расположены согласно системе, представленной в 10-м издании Словаря грибов Айнсворта и Бисби (Kirk & al., 2008). Тип гнилевых проявлений, вызываемых афиллофоридными грибами, определялся на основе монографии А.С. Бондарцева (1953).

В результате исследования выявлено 129 видов дереворазрушающих макромицетов, относящихся к отряду *Basidiomycota*, классу *Agaricomycetes*, 10 порядкам, 33 семействам и 73 родам.

Большинство выявленных видов относится к порядку *Polyporales* (69 вида; 53,5% от общего числа видов). Данный порядок представлен 8 семействами (24,2% от общего числа семейств) и 40 родами (54,8% от общего числа родов). Меньшим числом видов характеризуются порядки *Hymenochaetales* (23; 17,8%), включающий 2 семейства (6,1%) и 8 родов (11,0%), *Agaricales* (15; 11,6%), состоящий из 10 семейств (30,3%) и 11 родов (15,1%), *Russulales* (11; 8,5%) с 5 семействами (15,2%) и 7 родами (9,6%), *Gloeophyllales* (3; 2,3%), состоящие из 1 (3,0%) семейства и 1 (1,4%) рода, *Boletales*, *Cantharellales*, *Corticiales* (2; 1,6%) с 2 (6,1%), 1 (3,0%) и 1 (3,0%) семействами, 2 (2,7%), 1 (1,4%) и 1 (1,4%) родами. Порядки *Auriculariales* и *Trechisporales* включают в свой состав 1 (3,0%) семейство, 1 (1,4%) род и представлены всего 1 (0,8%) видом.

Наибольшее число видов дереворазрушающих грибов относится к семейству *Polyporaceae* (40), что составляет 31,0%, *Hymenochaetaceae* (19; 14,7%), *Fomitopsidaceae* (13; 10,1%), *Meruliaceae*, *Stereaceae* (5; 3,9%), *Ganodermataceae*, *Phanerochaetaceae*, *Schizoporaceae* (4; 3,1%), *Gloeophyllaceae*, *Pleurotaceae*, *Strophariaceae* (3; 2,3%), *Bankeraceae*, *Corticaceae*, *Heriaceae*, *Hydnaceae*,

Schizophyllaceae (2; 1,6%). По одному виду представлено у *Agaricaceae*, *Amylocorticaceae*, *Amylostereaceae*, *Auriculariaceae*, *Bondarzewiaceae*, *Coniophoraceae*, *Cyphellaceae*, *Fistulinaceae*, *Hapalopilaceae*, *Hydnodontaceae*, *Inocybaceae*, *Meripilaceae*, *Mycenaceae*, *Peniophoraceae*, *Physalacriaceae*, *Serpulaceae*, *Sparassidaceae* (0,8%).

Ведущими по видовому составу являются рода *Phellinus* (9; 7,0%), *Polyporus* (8; 6,2%), *Inonotus*, *Trametes* (5; 3,9%), *Ganoderma*, *Postia*, *Stereum* (4; 3,1%), *Gloeophyllum*, *Oxyporus*, *Pholiota*, *Pleurotus*, *Trichaptum* (3; 2,3%), *Bjerkandera*, *Corticium*, *Daedaleopsis*, *Datronia*, *Dichomitus*, *Hapalopilus*, *Hericium*, *Hydnum*, *Inocutis*, *Lenzites*, *Phlebia*, *Skeletocutis*, *Spongipellis*, *Tyromyces* (2; 1,6%). Рода *Agaricus*, *Aleurocystidiellum*, *Armillaria*, *Artomyces*, *Aurantiporus*, *Auricularia*, *Buglossoporus*, *Ceraceomyces*, *Cerrena*, *Chondrostereum*, *Climacocystis*, *Coltricia*, *Coniophora*, *Coriolopsis*, *Crepidotus*, *Daedalea*, *Fibroporia*, *Fistulina*, *Fomes*, *Fomitopsis*, *Gloeoporus*, *Grifola*, *Heterobasidion*, *Hydnellum*, *Hymenochaete*, *Irpex*, *Ischnoderma*, *Junghuhnia*, *Laetiporus*, *Meripilus*, *Meruliopsis*, *Neolentinus*, *Panellus*, *Peniophora*, *Perenniporia*, *Phaeolus*, *Phanerochaete*, *Piptoporus*, *Poro-daedalea*, *Porotheleum*, *Pycnoporus*, *Schizophyllum*, *Schizopora*, *Serpula*, *Sparassis*, *Trametopsis*, *Trechispora* включают всего лишь по 1 виду (0,8%).

На территории исследования выявленные виды дереворазрушающих грибов по типу питания и трофической принадлежности распределяются следующим образом:

1. Сапротрофы — SA (66; 51,2%): А) подгруппа моносапротрофов (64; 49,6%) представлена ксилосапротрофами — Le (64; 49,6%): *Agaricus squarrosus*, *Aleurocystidiellum disciforme*, *Artomyces pyxidatus*, *Buglossoporus pulvinus*, *Ceraceomyces serpens*, *Cerrena unicolor*, *Coniophora puteana*, *Coriolopsis gallica*, *Corticium lacteum*, *C. roseum*, *Crepidotus mollis*, *Datronia mollis*, *D. stereoides*, *Fibroporia vaillantii*, *Gloeophyllum odoratum*, *G. protractum*, *G. sepiarium*, *Gloeoporus dichrous*, *Hapalopilus croceus*, *H. nidulans*, *Hericium coralloides*, *H. erinaceus*, *Hydnellum ferrugineum*, *Hymenochaete rubiginosa*, *Irpex lacteus*, *Junghuhnia nitida*, *Inonotus rheades*, *Lenzites betulina*, *L. warnieri*, *Meruliopsis taxicola*, *Neolentinus suffutenscens*, *Panellus stipticus*, *Peniophora pini*, *Perenniporia medulla-panis*, *Phanerochaete sanguinea*, *Phellinus ferruginosus*, *Pholiota aurivella*, *Ph. populnea*, *Ph. spumosa*, *Pleurotus ostreatus*, *Pl. pulmonarius*, *Pl. salignus*, *Prototheleum fimbriatum*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Schizopora paradoxa*, *Serpula lacrymans*, *Skeletocutis amorpha*, *Sk. nivea*, *Spongipellis litschauri*, *Sp. spumeus*, *Stereum gausapatum*, *S. hirsutum*, *S. ostrea*, *S. rugosum*, *Trametes gibbosa*, *Tr. hir-*

suta, *Tr. ochracea*, *Tr. pubescens*, *Tr. versicolor*, *Trichaptum abietinum*, *Tr. bifforme*, *Tr. hollii*, *Trametopsis cervina*, *Trechispora mollusca*; В) подгруппа полисапротрофы — Ps (2; 1,6%) включает 2 группы: 1) Ps [Hu / Lh]: (1; 0,8%): *Coltricia perennis*; 2) Ps [Lei / Lep]: (1; 0,8%): *Auricularia mesenterica*.

2. Грибы со смешанным типом питания — Pt (63; 48,8%) представлены 4 трофическими группами: 1) Pt [Le / P]: факультативные ксилотрофы (38; 29,5%): *Aurantiporus fissilis*, *Bjerkandera adusta*, *Bj. fumosa*, *Chondrostereum purpureum*, *Climacocystis borealis*, *Daedalea quercina*, *Daedaleopsis confragosa*, *D. tricolor*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma cupreolacatum*, *G. lipsiense*, *G. lucidum*, *G. resinaceum*, *Grifola frondosa*, *Ischnoderma benzoinum*, *Oxyporus latemarginatus*, *O. obducens*, *O. populinus*, *Phlebia tremellosa*, *Ph. radiata*, *Piptoporus betulinus*, *Polyporus alveolaris*, *P. arcularius*, *P. brumalis*, *P. cervinus*, *P. squamosus*, *P. tuberaster*, *P. umbellatus*, *P. varius*, *Porodaedalea pini*, *Postia caesia*, *P. floriformis*, *P. rennyi*, *P. tephroleuca*, *Shizophyllum commune*, *Tyromyces chioneus*, *T. squamulosus*; 2) Pt [P / Le] = факультативные ксилосапротрофы (22; 1,6%): *Armillaria mellea*, *Dichomitus campestris*, *D. squalens*, *Fistulina hepatica*, *Heterobasidium annosum*, *Inocutis dryophila*, *In. rheades*, *Inonotus dryadeus*, *In. hispidus*, *In. obliquus*, *In. radiatus*, *Laetiporus sulphureus*, *Meripilus giganteus*, *Phaeolus schweinitzii*, *Phellinus hartigi*, *Ph. ignarius*, *Ph. laevigatus*, *Ph. nigrolimitatus*, *Ph. pini*, *Ph. robustus*, *Ph. tremulae*, *Ph. Tuberculosis*; 3) Pt [Mr / Le]: (2; 1,6%): *Hydnum repandum*, *H. rufescens*; 4) Pt [P / Lh]: (1; 0,8%): *Sparassis crispa*.

Подавляющее число видов грибов вызывают белую гниль (100 вида; 77,5% от общего числа видов), меньшим числом представлен тип бурой (21; 16,2%), желто-бурой (4; 3,1%), белой мраморной, бурой трещиноватой и ситовидной гнилями (1; 0,8%).

Исследования видового состава дереворазрушающих грибов Воронежской области будут продолжены.

Список литературы

1. Бондарцев А.С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. — М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1953. — 1106 с.
2. Частухин В.Я., Николаевская М.А. Биологический распад и ресинтез органического вещества в природе. — Л.: Наука, 1969. — 326 с.
3. Степанова Н.Т., Мухин В.А. Основы экологии дереворазрушающих грибов. — М.: Наука, 1979. — 100 с.
4. Бурова Л.Г. Экология грибов-макромицетов. — М.: Наука, 1986. — 222 с.
5. Бондарцева М.А. Эколого-биологические закономерности функционирования ксилотрофных базидиомицетов в лесных экосистемах // Грибные сообщества лесных экосистем: материалы координационных исслед. — М.: Петрозаводск, КарНЦ РАН, 2000. — С. 9–25.
6. Бондарцева М.А., Пармасто Э.Х. Определитель грибов СССР. Порядок Афиллофоровые. Вып. 1. Семейства гименохетовые, лахнокладиевые, кониофоровые, щелелистниковые. — Л.: Наука, 1986. — 192 с.
7. Parmasto E. On the origin of the Hymenomycetes (What are corticioid fungi?) // Windahlia. — 1986. — Vol. 16. — P. 3–19.
8. Волобуев С.В. Афиллофороидные грибы Орловско области: таксономический остав, распространение, экология. — СПб: Лань, 2015. — 304 с.
9. Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. Dictionary of the Fungi. — Wallingford: CABT Europe — UK, 2008. — 771 p.

ИНВАЗИВНАЯ МИКОБИОТА ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД В БЕЛАРУСИ

Беломесяцева Д.Б.¹, Звягинцев В.Б.², Шабашова Т.Г.¹

¹Институт экспериментальной ботаники, Минск, Беларусь;

²Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

Проведенная ревизия видового состава микобиоты хвойных растений на территории Беларуси позволила установить на хвойных древесных породах наличие следующих видов фитопатогенных организмов с подтвержденным или обсуждаемым инвазивным статусом [1]:

- *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, Eur. J. For. Path. 13(4): 208 (1983);
- *Dothistroma septosporum* (Dorog.) M. Morelet, Bull. Soc. Sci. nat. Arch. Toulon et du Var 177: 9 (1968);
- *Gymnosporangium sabiniae* (Dicks.) G. Winter, Pilze Deutschl. 1: 232 (1884);
- *Gymnosporangium tremelloides* R. Hartig, Lehrb. Baumkrankh.: 55 (1882);
- *Ophiostoma polonicum* Siemaszko, Planta Pol. 7(3): 33 (1939);
- *Passalora juniperina* (Georgescu & Badea) H. Solheim, Agarica 33: 78 (2013);

- *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert, Bull. Jard. bot. État Brux. 19(3): 340 (1949);
- *Rhizosphaera kalkhoffii* Bubák, Ber. dt. bot. Ges. 32: 190 (1914);
- *Sphaeropsis sapinea* (Fr. ex. Fr.) Dyko et Sutto (инвазивный статус уточняется);
- *Stigmina deflectens* (P. Karst.) M.B. Ellis, Mycol. Pap. 72: 63 (1959);
- *Coleosporium complex* (видовой и инвазивный статус уточняется);
- *Phoma complex* (видовой и инвазивный статус уточняется).
- На листовых породах встречаются инвазивных дендропатогенных организмов:
- *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 5 (2000);

- *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya, IMA Fungus 5(1): 79 (2014) (анаморфная стадия *Chalara fraxinea* T. Kowalski, For. Path. 36(4): 264 (2006);
- *Erysiphe flexuosa* (Peck) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 19 (2000);
- *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr., Sylv. mycol. berol. (Berlin): 28 (1818);
- *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter, Pilze Deutschl. 1: 232 (1884);
- *Melampsorium betulinum* (Pers.) Kleb., Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz 9: 21 (1899);
- *Melampsorium hiratsukanum* S. Ito ex Hirats. f., J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 21: 10 (1927);
- *Neofabraea alba* (E.J. Guthrie) Verkley, Stud. Mycol. 44: 125 (1999);
- *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf., in Melin & Nannfeldt, Svensk Skogsvårdsförening Tidskr. 3–4: 408 (1934);
- *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert, Bull. Jard. bot. État Brux. 19(3): 340 (1949);
- *Phyllosticta paviae* Desm., Anns Sci. Nat., Bot., sér. 3 8: 32 (1847);
- *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk, in Brasier, Kirk, Delcan, Cooke, Jung & Man in't Veld, Mycol. Res. 108(10): 1174 (2004);

Также зафиксировано развитие бактерии *Erwinia amylovora* (Burrill 1882) Winslow et al.

Недавно появившийся в стране вид *Melampsorium hiratsukanum* S. Ito ex Hirats. f., J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 21: 10 (1927). Впервые выявлен на двух видах ольхи *Alnus glutinosa* и *A. incana*. Патоген обнаружен в северной и южной геоботанических подзонах страны на территории Витебской, Минской и Брестской областей, что подтверждается методом молекулярного анализа.

Наибольшее распространение и вредоносность в Беларуси имеет вид *Hymenoscyphus fraxineus* (*Chalara fraxinea*) [2].

Ревизия видового состава микобиоты в дендропарках и дендрариях Министерства лесного хозяйства Беларуси, проведенная совместно с ГУ «Беллесозащита» и Институтом леса НАН Беларуси показала, что имеются очаги развития более 50 инвазивных фитопатогенных организмов [3–5].

Ascochyta syringae Bres.; *Ascochyta tenerrima* Sacc. & Roum.; *Capnophialophora pinophila* (Nees) Borowska; *Ceratocystis ulmi* (Buism.) Moreau (*Ophiostoma ulmi*); *Cercospora ligustrina* Boerema; *Coleosporium* complex; *Colletotrichum exiguum* Penz. et Sacc.; *Coniothyrium australe* Sacc.; *Diaporthe oncostoma* (Duby); *Diplodia taxi* (Sowerby) De Not.; *Dothidella juniperi* (Desm.) Höhn. (*Phoma juniperi*); *Dothistroma septosporum* (Dorog.) M. Morelet; *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam.; *Erysiphe flexuosa* (Peck) U. Braun & S. Takam.; *Erysiphe palczewskii* (Jacz.) U. Braun & S. Takam.; *Erysiphe syringae* Schwein.; *Guignardia aesculi* (Peck) V. B. Stewart (*Phyllosticta paviae*); *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter; *Gymnosporangium tremelloides* R. Hartig; *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya.; *Lachnellula willkommii* (R. Hartig) Dennis; *Lirula nervisequa* (DC.) Darker; *Melampsorium hiratsukanum* S. Ito ex Hirats.; *Metadiplodia thujae* (Westend.) Zambett.; *Microsphaera jaczewskii* U. Braun; *Mycosphaerella patouillardii* (Sacc.) Maire & Werner; *Neofusicoccum ribis* (Slippers, Crous &

M.J. Wingf.) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (*Septomyxa aesculi*); *Ophiognomonia leptostyla* (Fr.) Sogonov (*Marssonina juglandis*); *Ophiostoma* complex; *Passalora juniperina* (Georgescu & Badea) H. Solheim (*Asperisporium juniperinum*); *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert; *Phomopsis velata* (Sacc.) Traverso; *Phyllosticta spiraeina* Brun.; *Plagiostoma aesculi* (Fuckel) Sogonov (*Cryptodiaportha aesculi*); *Podosphaera minor* Home.; *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Filip. Et Sch. Stekh.; *Pseudoidium hortensiae* (Jørst.) U. Braun & R.T.A. Cook; *Pseudomonas* sp.; *Pseudonectria buxi* (DC.) Seifert, Gräfenhan & Schroers (*Volutella buxi*); *Ramularia spiraeae* Peck; *Rhabdocline laricis* (Vuill.) J.K. Stone (*Meria laricis*); *Septoria aesculina* Thüm.; *Septoria astragali f. robiniae* Nagorny; *Septoria cydoniae* Fuckel; *Septoria guevillensis* Sacc.; *Septoria hippocastani* Berk. et Broome; *Septoria ligustri* (Roberge ex Desm.) J. Kickx f.; *Sphaeloma symphoricarpi* Barrus & Horsfall; *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton.; *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll. (*Sclerophoma pityophila*); *Trichocladia coluteae f. caraganae* Jacz.; *Uromyces caraganae* (Thüm.) Magnus; *Valsa cyperi* (Tul.) Tul. & C. Tul.

Всего, в лесных насаждениях на аборигенных хвойных породах зафиксировано 8 инвазивных видов фитопатогенных организмов, на лиственных породах — 12 видов, а на декоративных растениях-интродуцентах в дендрариях — 54 вида. Большинство инвайдеров проникло на территорию республики расширяя свой вторичный ареал из центров непреднамеренной интродукции в странах Европы.

Список литературы

1. Беломесяцева Д.Б., Звягинцев В.Б., Шабашова Т.Г., Волченкова Г.А. Инвазивный компонент в составе микобиоты хвойных пород // Труды БГТУ. Сер. 1. Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов. — Минск: БГТУ, 2018. — № 1 (204). — С. 37–44.
2. Zvyagintsev V. B., Baranov O. Yu., Melnik L. F. Pathogenic fungal diseases of branches of the ash in the drying out plantations in Belarus // Fungi and lichens in the Baltics and Beyond: XVIII Symposium of the Baltic Mycologists and Lichenologists Lithuania. Dubingiai. 2011. P. 21.
3. Беломесяцева Д.Б., Звягинцев В.Б., Шабашова Т.Г. Инвазивный компонент в составе микобиотических дендрокомплексов лиственных пород в Беларуси // Ботаника (исследования). — Вып. 47, Мн., 2018. — С. 93–100.
4. Беломесяцева Д.Б., Звягинцев В.Б., Шабашова Т.Г., Волченкова Г.А. Инвазивные виды дендропатогенных микромицетов в дендрариях и дендропарках лесхозов Беларуси // «Микология и альгология России. XX — XXI век: смена парадигм» / Материалы Всероссийской конф.(Москва, МГУ, 17–19 ноября 2018 г.) / Москва: Издательство «Перо», 2018 — С. 126–127.
5. Поликсенова В. Д., Храпцов А. К., Федорович М. Н. Чужеродные и инвазивные фитопатогенные микромицеты в естественных и искусственных фитоценозах Беларуси // Современная микология в России. Том 7. Материалы 4-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2017. — С. 90–91.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МУЧНИСТОРОСЯНЫХ ГРИБОВ В НАСАЖДЕНИЯХ БУЛЬВАРНОГО КОЛЬЦА МОСКВЫ

Белов Д.А.

*Мытищинский филиал ФГБОУ ВО «Московский Государственный
Технический Университет им. Н.Э. Баумана»*

Бульвары Москвы — значимые внутригородские пешеходные магистрали. Это озелененные территории общего пользования вдоль улиц в виде полосы шириной не менее 18 м, предназначенные для пешеходного транзитного движения и кратковременного отдыха.

Чаще всего насаждения бульваров представлены изолированными посадками вдоль проезжей части и декоративными группами из относительно устойчивых деревьев и кустарников. По выражению И.Я. Башкевича с соавторами [1], бульвары — это многополосные посадки, своеобразные лесополосы с достаточно плотным растительным барьером. Насаждения бульваров, как правило, сформированы по типу аллей, рядовых или куртинных посадок, но в отдельных случаях — и как фрагменты пейзажных парков.

Бульвары полифункциональны, они выполняют и эстетическую, и утилитарную функции. Расположенные в кварталах с высокой плотностью застройки, они используются для прогулок, отдыха и общения в течение всего дня [2–4].

Самые ранние по времени создания бульвары Москвы образуют Бульварное Кольцо — непрерывную последовательность бульваров в Центральном административном округе, состоящую из десяти бульваров (Гоголевский, Никитский, Тверской, Страстной, Петровский, Рождественский, Сретенский, Чистопрудный, Покровский, Яузский). Длина их цепи составляет более 9 км.

С 1862 г. насаждения Бульварного Кольца многократно реконструировались.

Последняя по времени проведения реконструкция Бульварного кольца началась в 2008 г. Первыми были реконструированы Чистопрудный, Никитский, Рождественский и Страстной бульвары. В 2011 г. работы были завершены на Яузском, Гоголевском, Петровском и Сретенском бульварах. В 2012 г. реконструкция завершилась работами на Тверском и Покровском буль-

варах. Единичные локальные реконструкционные работы проводились и в последние 5 лет.

Периодические изменения структуры насаждений на Бульварном кольце привели к эклектичности возраста насаждений. На всем протяжении Кольца произрастают как старые, так и средневозрастные и сравнительно молодые растения. При этом точечные высадки единичных экземпляров растений различных видов проводятся каждый год.

Состояние насаждений бульваров в Центральном округе Москвы и его динамика изучается автором, начиная с 1997 г. [5].

Летом 2018 г. было проведено разовое обследование территории Бульварного Кольца со сплошным перечетом древесно-кустарниковой растительности. В процессе работы была дана оценка состоянию 3821 экземплярам древесных и 8758 экземплярам кустарниковых растений, относящихся к 73 видам.

Ниже приводится часть результатов проведенных работ.

Основу ассортимента древесных растений составляют как коренные лиственные лесообразующие виды — липа мелколистная (38,4%), клен остролистный (8,3%), тополь бальзамический (5,2%), вяз гладкий (4,9% общего количества древесных растений), так и интродуцированные растения — ясень пенсильванский (23,2%), клен ясенелистный (3,7%). Остальные виды древесных растений представлены небольшим количеством экземпляров (от 1 до 91 — максимум 2,3% общего количества древесных растений в насаждениях Бульварного Кольца).

Среди кустарниковых растений 60,7% общего количества представлено кизильником блестящим, 11,0% — караганой древовидной, 7,6% — боярышником обыкновенным, 5,0% — сиренью обыкновенной.

Шесть видов кустарников представлены в количестве от 100 до 200 экземпляров, двадцать восемь видов — в количестве менее 100 экземпляров каждый.

Таблица 1 — Состояние древесных и кустарниковых растений в насаждениях на Бульварном Кольце

Бульвар	Количество экземпляров,% (по категориям состояния)			
	1	2	3	4
Гоголевский	87,07	11,02	1,62	0,29
Никитский	93,79	6,03	0,18	-
Тверской	69,97	27,46	1,73	0,84
Страстной	81,34	16,38	2,02	0,26
Петровский	68,80	27,84	2,88	0,48
Рождественский	89,84	8,36	1,16	0,64
Сретенский	83,06	15,94	1,00	-
Чистопрудный	79,98	19,23	0,48	0,31
Покровский	36,47	60,48	1,72	1,33
Яузский	21,84	75,36	2,80	-
Итого на Бульварном Кольце	77,91	20,31	1,34	0,44

Таблица 2 — Мучнисторосяные грибы, идентифицированные в насаждениях Бульварного Кольца

Вид растения	Вид возбудителей мучнистой росы
Гортензия крупнолистная	<i>Erysiphe communis</i> Opiz ex L. Junell
Каштан конский обыкновенный	<i>Erysiphe flexuosa</i> (Peck) U. Braun & S. Takam.
Дуб черешчатый	<i>Microsphaera alphitoides</i> Gr. et Maubl.
Барбарис обыкновенный	<i>Microsphaera berberidis</i> (DC.) Lév.
Жимолость обыкновенная	<i>Microsphaera loniceriae</i> (DC.) G. Winter
Карагана древовидная	<i>Microsphaera palczewskii</i> Jacz.
Снежнаягодник белый	<i>Microsphaera penicillata</i> Jacz.
Калина обыкновенная	<i>Microsphaera penicillata</i> f. <i>viburni</i> Jacz.
Сирень обыкновенная	<i>Microsphaera syringae</i> Jacz.
Боярышник кроваво-красный	<i>Podosphaera clandestina</i> (Wallr.) Lév.
Ясень пенсильванский	<i>Phyllactinia guttata</i> (Wallr.) Lév.
Клен ясенелистный, клен Гиннала, клен татарский	<i>Sawadaia bicornis</i> (DC.) Miyabe
Клен остролистный	<i>Sawadaia tulasnei</i> (Fuckel) Homma
Шиповник обыкновенный	<i>Sphaerotheca pannosa</i> (Wallr.) Lév.
Тополь бальзамический	<i>Uncinula adunca</i> (Wallr.) Lév.

Наиболее высокое разнообразие ассортимента древесно-кустарниковых растений наблюдается в насаждениях Страстного (32 вида), Тверского и Чистопрудного (по 28 видов) и Покровского (26 видов) бульваров. На Яузском бульваре произрастает всего 6 видов древесных и кустарниковых растений.

Состояние древесных и кустарниковых растений в насаждениях на Бульварном Кольце представлено в табл. 1.

Данные, представленные в табл. 1, позволяют утверждать, что общее состояние растений на Бульварном Кольце следует признать удовлетворительным.

Также следует отметить, что в насаждениях на двух бульварах (Покровский и Яузский) доминируют растения, отнесенные ко 2 категории состояния, а на Покровском бульваре также имеется наибольшее количество (относительно общего количества растений на бульваре) сухостоя текущего года, что говорит о мощном антропогенном прессе наряду с естественными факторами ослабления растений.

Наличие сухостойных деревьев, позволяет также предположить недостаточно четкую организацию системы наблюдения за состоянием растений в насаждениях Бульварного Кольца, ухода за растениями и проведения необходимых ликвидационных мероприятий при гибели растений.

Одним из факторов, существенно влияющих на состояние насаждений на Бульварном Кольце, является распространение болезней древесных растений. К числу наиболее часто встречающихся на всех видах лиственных растений инфекционных болезней относится мучнистая роса.

Возбудители данного типа болезни встречаются на всем протяжении Бульварного Кольца и их распространение стимулируется отсутствием должного ухода за растениями. Так, не удаленный вовремя самосев древесных растений, произрастающий внутри куртин, рядов и отдельных экземпляров кустарников в массе подвержен поражению возбудителями мучнистой росы и является их резерватом.

Кроме того, в московских насаждениях, и на Бульварном Кольце в том числе, практикуется проведение глубокой обрезки крон (ГОК) древесных растений. В 2018 году наибольшее количество таких деревьев находилось на Тверском, Страстном, Петровском и Покровском бульварах. В первую очередь ГОК подвергались экземпляры ясеня пенсильванского и тополя бальзамического, реже — экземпляры липы мелколистной и вяза гладкого.

На части таких деревьев после проведения ГОК начинают усиленно развиваться мучнистая роса. В частности в насаждениях Чистопрудного бульвара все тополя бальзамические, подверженные ГОК, после развертывания компенсационной листвы были в сильной степени поражены мучнистой росой, тогда как экземпляры тополей с нетронутыми кронами, не имели даже следов развития возбудителя данного заболевания.

В изменяющейся экологической обстановке при ужесточении неблагоприятного воздействия факторов городской среды следует пересмотреть сложившуюся в Москве систему проектирования, технологию создания и содержания насаждений на городских бульварах. Необходимо дифференцированно подходить к целесообразности использования тех или иных видов и форм древесных растений и типов посадки и скорректировать технологию работ по уходу за насаждениями и по их защите от вредных организмов в разной экологической ситуации, вплоть до индивидуального лечения растений.

Список литературы

1. Башкевич, И.Я. Влияние химического состава городских почв на состояние древесных насаждений / И.Я. Башкевич, С.Б. Самоев, И.А. Морозова // Экология большого города. Альманах. — М.: Прима-Пресс, 1998. — Вып. 3. — С. 62–73.
2. Сытин, П.В. История московских улиц / П.В. Сытин. — М.: Эксмо, 2008. — 512 с.
3. Федосюк, Ю.А. Москва в кольце Садовых / Ю.А. Федосюк. — М.: АСТ, 2009. — 446 с.

4. Фролова, В.А. Исследование структуры насаждений на общегородских объектах озеленения (на примере бульваров г. Москвы) / В.А. Фролова. — Автореф. дисс. на соиск. учен. степ. к.с.-х. н. — М.: МГУЛ, 2001. — 23 с.
5. Белова, Н.К. Состояние зеленых насаждений на бульварах Москвы / Н.К. Белова, Э.С. Соколова, Д.А. Белов // Лесной вестник. — 2000. — № 6. — М.: МГУЛ. — С. 100–110.
6. Журавлев, И.И. Определитель грибных болезней деревьев и кустарников: Справочник // И.И. Журавлев, Т.Н. Селиванова, Н.А. Черемисинов. — М.: Лесная промышленность, 1979. — 247 с.
7. Букина, И.А. Порядок Erysiphales // Низшие растения, грибы и мохообразные советского Дальнего Востока / И.А. Букина. — Грибы. — Т. 2. — Л.: Наука, 1990. — С. 11–42.
8. Васягина, М.П. Мучнисторосяные грибы // М.П. Васягина, М.Н. Кузнецова, Н.Ф. Писарева, С.Р. Шварцман. — Алма-Ата: 1961. — 459 с.
9. Гелюта, В.П. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы / В.П. Гелюта. — Киев: Наукова Думка, 1989. — 256 с.
10. Головин, П.Н. Мучнисторосяные грибы, паразитирующие на культурных и полезных растениях // П.Н. Головин. — М.-Л.: Изд. АН СССР, 1960. — 266 с.
11. Горленко, М.В. Мучнисторосяные грибы Московской области / М.В. Горленко. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 72 с.
12. Рахимова, Е.В. Краткий иллюстрированный определитель мучнисторосяных грибов Казахстана и приграничных территорий // Е.В. Рахимова, Г.А. Нам, Б.Д. Ермекова. — Новосибирск: 2014. — 129 с.

СОВРЕМЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О МИКОБИОТЕ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА *BETULACEAE* GRAY В ДОНЕЦКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ

Бондаренко-Борисова И.В.¹, Булгаков Т.С.²

¹Донецкий ботанический сад, Донецк

²ВНИИ цветоводства и субтропических культур, Сочи

Представители семейства Березовых (*Betulaceae* Gray), в особенности роды ольха (*Alnus* Mill.), береза (*Betula* L.), граб (*Carpinus* L.) и лещина (*Corylus* L.) играют заметную роль в формировании лиственных лесов Европы. Многие виды берез широко используются в озеленении городов, а многие лещины являются важными орехоплодными культурами. Однако в условиях степной зоны юго-востока Украины они часто страдают от неподходящего климата и почв, а в городских условиях — и от загрязнения, теряя устойчивость к фитопатогенам (Поляков, 2009), среди которых преобладают различные фитопатогенные грибы. современное разнообразие и экологические особенности грибов в городских насаждениях и ботанических садах в степной зоне исследованы относительно слабо (Поляков, 2009; Бондаренко-Борисова, Булгаков, 2019; Булгаков, Бондаренко-Борисова, 2019). В связи с этим нами была поставлена цель — провести исследование видового состава грибов (микобиоты) растений семейства *Betulaceae* в Донецком ботаническом саду (далее — ДБС) и оценить взаимоотношения каждого выявленного вида гриба и его питающего растения.

Сбор образцов велся методом детального обследования деревьев и кустарников в коллекциях и парках ДБС в весенний, летний и осенний сезон в 2017–2019 гг. Гербаризация и хранение собранных образцов (частей растений с генеративными структурами грибов) осуществлялись по стандартным методикам (Наумов, 1937). Изучение макро- и микроскопических признаков грибов осуществлялось с использованием бинокулярных луп JNOEC SZM–45T2 и Stemi2000C Carl Zeiss, изучение временных препаратов их генеративных структур — при помощи светового микроскопа

Primo Star (Carl Zeiss Jena GmbH, Jena, Germany). Для определения видовой принадлежности обнаруженных грибов использовались специальные определители (Sutton, 1980; Butin, 1989; Ellis, Ellis, 1997; Braun, Cooke, 2012). Латинские названия видов и их таксономическое положение приводятся согласно открытым базам — соответственно для грибов (Mycobank, 2020) и растений (The plant list, 2020). Всего в ДБС были обследованы: 1 вид ольхи, 9 видов берез (включая 2 гибридогенных), 2 вида граба, 5 видов лещин и 1 вид хмелеграба (*Ostrya carpinifolia*).

Грибы были выявлены на представителях всех родов сем. *Betulaceae*. На всех произрастающих в ДБС видах *Betulaceae* отмечено 35 видов грибов из 30 родов. По общему числу видов (25) преобладали аскомицеты-микромикомыцеты, тогда как макромикомыцеты-базидиомицеты были представлены преимущественно афиллофороидными грибами (всего 9 видов) и единственным видом ржавчинного гриба.

Наименьшее число видов отмечено на *Ostrya carpinifolia* — единственный вид *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr., вызывающий некрозы ветвей. На *Alnus glutinosa* были отмечены только 4 вида грибов, в том числе 3 вида микромикомыцетов, все из которых можно отнести к числу фитопатогенных: *Taphrina sadebeckii* и *Ramularia endophylla* — вызывающие пятнистость листьев, *Cytospora* cf. *umbrina* — на отмерших ветвях, *Schizophyllum commune* — на стволах.

На лещинах (*Corylus*) найдены 9 видов грибов, в т.ч. возбудитель пятнистости листьев *Asteroma coryli* и два мучнисторосяных гриба: *Phyllactinia guttata* и *Erysiphe corylacearum*, из которых последний является инвазивным видом, сравнительно недавно

обнаруженным на территории Украины (Бондаренко-Борисова, Булгаков, 2018, 2019; Heluta, Makarenko, Al-Maali, 2019) и России (Булгаков, Бондаренко-Борисова, 2017; Булгаков, 2018) и отмечается в ДБС только с 2016 г. (Бондаренко-Борисова, Булгаков, 2019). *Phyllactinia guttata* регулярно отмечался на живых листьях всех лещин, кроме *Corylus americana* и *C. colurna*. *Erysiphe corylacearum* отмечен лишь на *Corylus avellana* и *C. maxima*. Характерной чертой возбудителей мучнистой росы лещин является своеобразное пространственное разделение экологических ниш у двух видов: мицелий и плодовые тела *Phyllactinia guttata* развиваются только на нижней стороне листьев лещины в осенние месяцы, тогда как у *Erysiphe corylacearum* — почти всегда на верхней стороне листьев с середины лета. На отмерших ветвях найдены *Nectria cinnabarina*, *Thyronectria coryli* и *Trimmatostroma betulinum*, на стволиках были обнаружены *Auricularia mesenterica*, *Daedaleopsis confragosa* и *Shizophyllum commune*.

На грабах (*Carpinus*) найдено 7 грибов: возбудитель мучнистой росы *Erysiphe arcuata*, пятнистости листьев *Gnomonia fimbriata* и *Cladosporium herbarum*, на ветвях обнаружены патогенные грибы *Melanconiella spodiaea* и *Nectria cinnabarina*, а на стволах — *Cerrena unicolor* и *Schizophyllum commune*. Инвазивный для Европы вид *Erysiphe arcuata* ранее отмечался на территории Украины (Braun et al., 2006) в стадии анаморфы, однако в ДБС в 2019 г. он был найден впервые, при этом впервые была обнаружена сумчатая стадия (хазмотеции).

Наибольшее число видов грибов (23 вида) отмечено на березах (*Betula*). Из числа неспециализированных патогенов на листьях берез встречались *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* и *Ramularia endophylla*, особенно часто отмечавшиеся при поражении листьев тлями. Из специализированных возбудителей мучнистой росы встречались *Phyllactinia betulae* (на многих видах берез) и *Erysiphe ornata* (только на *Betula pubescens*). Из возбудителей пятнистостей листьев отмечены *Orhiognomonia intermedia* и *Marssonina betulae*, однако их вредоносность сравнительно невелика. Отметим, что указанные ранее для Донецка и ДБС (Поляков, 2009) как возбудители болезней листьев берез микромицеты *Atopospora betulina* (syn. *Dothidella betulina*) и *Venturia ditricha* обнаружены не были, что можно дает основания подозревать ошибочность их указания для Донецкой области.

На отмерших ветвях диаметров более 1 см чаще всего отмечался аскомицет *Diatrypella favacea*, единично обнаружен другой вид того же рода — *Diatrypella verruciformis*. На отмерших и отмирающих тонких ветвях диаметром менее 1 см чаще всего отмечались микромицеты *Prosthemia betulinum*, *Melanconis stilbostoma*, *Trimmatostroma betulinum* и *Splanchnonema argus*, также единично встречены *Cytospora* cf. *betulina*, *Dothiorella sarmentorum* и *Thyronectria coryli*. Сравнительно часто встречались *Nectria cinnabarina*, который развивался на одной ветви с *Melanconis stilbostoma*, а также *Trimmatostroma betulinum*. Из перечисленных видов к числу фитопатогенных уверенно можно отнести *Prosthemia betulinum*, *Melanconis stilbostoma* и *Nectria cinnabarina*, поскольку их развитие обычно сопровождалось некрозами ветвей.

Из числа дереворазрушающих грибов на березах отмечены опасные патогены *Chondrostereum purpureum* и *Fomitopsis betulina* (на *Betula pendula* и *B. pubescens*), а также *Cerrena unicolor*, *Inonotus obliquus*, *Lenzites betulinus* и *Tremella mesenterica*.

Список литературы

1. Поляков А.К. Интродукция древесных растений в условиях техногенной среды. Донецк: Ноулидж, 2009. 268 с.
2. Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С. Дендротрофные мучнисторосые грибы (Erysiphaceae) Донецкой городской агломерации (Донецкая область) // Промышленная ботаника. 2019. Вып. 19, №1. С. 34–46.
3. Булгаков Т.С., Бондаренко-Борисова И.В. Ксилотрофные базидиомицеты Донецкого ботанического сада (г. Донецк): таксономический состав и экологические особенности // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2019. №. 228. С. 189–215.
4. Наумов Н.А. Методы микологических и фитопатогенных исследований. М.; Л.: Сельхозгиз, 1937. 272 с.
5. Sutton B.C. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p.
6. Butin H. Krankheiten der Wald- und Parkbaume: Diagnose, Biologie, Bekämpfung. Stuttgart, New York: Thieme, 1989. 216 p.
7. Braun U., Cook R.T.A. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). CBS Biodiversity series. Vol. 11. — Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2012. 707 p.
8. The Plant List. A working list of all plant species. URL: <http://www.theplantlist.org> (дата обращения: 28.02.2020)
9. Mycobank. URL: <http://www.mycobank.org> (дата обращения: 28.02.2020 г.)
10. Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С. Чужеродные микромицеты на древесно-кустарниковых растениях в арборетуме Донецкого ботанического сада // Проблемы лесной фитопатологии и микологии: матер. X междунар. конф., посв. 80-летию со дня рождения д.б.н. В.И. Крутова (Петрозаводск, 15–19 октября 2018 г.). Под ред.: Руоколайнен А.В., Кикеева А.В. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2018. С. 29–32.
11. Heluta V.P., Makarenko N.V., Al-Maali G.A. First records of *Erysiphe corylacearum* (Erysiphales, Ascomycota) on *Corylus avellana* in Ukraine // Ukrainian Botanical Journal. 2019. Vol. 76, №3. P. 252–259.
12. Булгаков Т.С., Бондаренко-Борисова И.В. Чужеродные грибы и грибоподобные организмы Донбасса: проблемы изучения на примере патогенов высших растений // Промышленная ботаника: состояние и перспективы развития: материалы VII Международной научной конференции (г. Донецк, 17–19 мая 2017 г.). Ростов-на-Дону: Альтаир, 2017. С. 69–74.
13. Булгаков Т.С. Инвазии чужеродных фитопатогенных грибов на юге европейской части России в XXI веке: мучнисторосые грибы на деревьях и кустарниках // X Чтения памяти О.А. Катаева. Ден-

дробиевые беспозвоночные животные и грибы и их роль в лесных экосистемах. Т. 2. Фитопатогенные грибы, вопросы патологии и защиты леса. Матер. междунар. конф. (Санкт-Петербург, 22–25 октября 2018 г.). СПб.: СПбГЛТУ, 2018. С. 11–12.

14. Braun U., Takamatsu S., Heluta V., Limkaisang S., Divarangkoon R., Cook R., Boyle H. Phylogeny and taxonomy of powdery mildew fungi of *Erysiphe* sect. *Uncinula* on *Carpinus* species // *Mycological Progress*. 2006. Vol. 5. P. 139–153.

ДИПЛОДИОЗ ХВОЙНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ В НАСАЖДЕНИЯХ БЕЛАРУСИ

Дишук Н.Г., Головченко Л.А.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Проникновение в растительные сообщества патогенных микроорганизмов происходит естественным и искусственным путем. Более активно патогены попадают в лесные, городские насаждения, частные владения с посадочным материалом растений, основными поставщиками которого являются питомники и садовые центры. Много зараженного материала поступает в республику из зарубежных питомников. Вместе с посадочным материалом, семенами, черенками, тарой происходит дальнейшее распространение патогенных микроорганизмов. В республику проникли возбудители болезней, которые ранее отсутствовали или имели ограниченное распространение и не причиняли ощутимого вреда древесным растениям, например возбудители диплодиевого некроза хвойных видов растений, которые широко распространены в мире. Заболеванию подвержены многочисленные представители сем. *Pinaceae* и *Cupressaceae*: *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Larix*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*, *Cedrus*, *Chamaecyparis*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Thuja* [1–5].

В 2016–2019 гг. проведено обследование фитосанитарного состояния аборигенных и интродуцированных видов хвойных растений в лесных культурах, лесных и декоративных питомниках, коллекционных посадках хвойных интродуцентов на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС), ботанических садов и дендропарков, в насаждениях Минска и прочих населенных пунктах Беларуси. При осмотре растений оценивали состояние кроны, наличие усыхания ветвей и побегов, пятен, некрозов, налетов, потеков смолы, изменение окраски хвои, ее преждевременное опадение. Идентификацию патогенов проводили по общепринятым в фитопатологии и микологии методикам [6]. Таксономическое описание возбудителей болезней дано в соответствии с базой данных Index Fungorum [7].

Обследование показало, что в республике диплодиоз повсеместно встречается в лесных культурах на сосне обыкновенной, также выявлен на 16 видах интродуцированных хвойных растений, произрастающих в дендропарках, питомниках и городах. Заболеванию выявлено на 5 видах сосны, 2 видах ели, 5 видах можжевельника, 2 садовых формах туи западной, тисе ягодном, 2 видах пихты, кипарисовике. Возраст обследованных больных растений в ботаническом саду и дендропарках составляет 20–70 лет, в декоративных питомниках и городских посадках — 5–30 лет.

Симптомы и характер поражения диплодиезом сосны обыкновенной и разных видов интродуцированных сосен различались. При поражении сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) отмечалось поражение одного или нескольких побегов текущего года. В месте некроза побег изгибался и поникал вниз, из пораженных тканей обильно выделялась смола, хвоя на таких побегах укорочена, на побегах и почках массово образовывались плодовые тела гриба. Как правило, такие побеги были повреждены сосновой тлей. В качестве возбудителя болезни идентифицирован патогенный гриб *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton.

У интродуцированных видов сосны побеги не поникали, оставались прямыми, на концах побегов почки не распускались, пораженная хвоя долго не осыпалась, приобретала бурый цвет, а плодовые тела обнаруживались преимущественно у основания хвоинок. Некрозы, засмоление побегов и почек на интродуцированных соснах выражено слабо. Отмечено поражение диплодиезом взрослых экземпляров сосны горной (*P. mugo*) на всей территории ЦБС (возраст деревьев более 30 лет, высота — 4–6 м), а также в других дендропарках, декоративных питомниках и городских насаждениях. Отмечено побурение и отмирание хвои 2–3-летнего возраста, засыхание и отмирание верхушечной почки. Усыхающие побеги располагались в разных частях кроны. Количество пораженных диплодиезом побегов на одном кусте сосны горной в ЦБС доходило до 10–15%, в городских посадках — до 3–5%. Диплодиоз также выявлен в коллекционных посадках ЦБС на сосне желтой (*P. ponderosa*), жесткой (*P. rigida*), черной (*P. nigra*), кедровой сибирской (*P. sibirica*). Это достаточно старые деревья (70 лет и более), растущие в разных участках дендрария. Больные побеги располагаются преимущественно в нижней части кроны, они заметно короче здоровых побегов, 2–3-летняя хвоя имеет бурый цвет, почки не засмолены, явные некрозы коры на побегах отсутствуют. Совместно с грибом *S. sapinea* из пораженных веток и хвои сосны желтой, жесткой, кедровой сибирской выделяли гриб *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet [= *Scleroderris lagerbergii* Gremmen].

Поражение диплодиезом туи западной (*Thuja occidentalis*) и ее садовых форм отмечалось сравнительно редко, преимущественно в декоративных и лесных питомниках на молодых растениях, на территории ЦБС заболевание не выявлено. Болезнь проявлялась в виде покраснения, а затем побурения хвои и зеленых недревесневших побегов. На молодых растениях по-

раженные побеги располагались на верхушке кроны, на старых — преимущественно в средней части кроны. Плодоношение гриба на пораженных частях растений, как правило, отсутствовало. В качестве возбудителя болезни идентифицирован патогенный гриб *Diplodia thujae* Westend.

Диплодиоз также отмечен на можжевельнике среднем (*Juniperis* × *media*), казацком (*Juniperus sabina*), скальном (*J. scopulorum*), чешуйчатом (*J. squamata*), китайском (*J. chinensis*), обыкновенном (*J. communis*) в коллекционных посадках хвойных в ЦБС, в городах, лесных и декоративных питомниках. Весной отмечается побурение концов побегов и хвои на них, длина большого побега составляет в среднем 5–20 см. Больные побеги располагаются по всей поверхности куста, у горизонтальных форм заболевание распространяется от центра к периметру в радиальном направлении. Смолоотечение, образование некрозов не наблюдается, плодовые тела на побегах и хвое немногочисленны либо отсутствуют. В качестве возбудителя болезни идентифицирован патогенный гриб *Diplodia juniperi* Westend. В комплексе с данным видом нередко паразитировали грибы из родов *Kabatina*, *Pestalotia*, *Lophodermium*, *Cladosporium*.

При поражении кипарисовика Лавсона (*Chamaecyperis lavsoniana*) хвоя приобретала красновато-бурую окраску, пораженные ветки располагались преимущественно внутри нижней и средней части кроны, заметных некрозов и засмоления побегов не выявлено. В качестве возбудителя болезни идентифицирован патогенный гриб *Sphaeropsis sapinea*.

Единичные случаи поражения диплодиозом зафиксированы в ЦБС в групповой посадке тиса ягодного (*Taxus baccata*), возраст деревьев более 60 лет. Отмечено явное ослабление заболевших растений, усыхание ветвей и побегов по всей части кроны, пожелтение и осыпание хвои. Пораженные ветки располагались преимущественно в затененных местах. Явных признаков некроза коры на стволе, ветках и засмоления не отмечали. В качестве возбудителя болезни идентифицирован патогенный гриб *Diplodia taxi* (Sowerby) De Not. В комплексе с данным видом из пораженной хвои тиса ягодного также выделяли грибы *Cryptocline taxicola* (Allesch.) Petr., *Phoma herbarum* Westend. Многочисленные плодовые тела гриба *D. taxi* располагались на верхней стороне хвои, гриба *C. taxicola* — с нижней стороны, гриб *P. herbarum* выделялся из мертвых тканей тиса.

В городских насаждениях диплодиоз нередко выявляли на сильно ослабленных различными факторами саженцах ели колючей (*Picea pungens*), ели канадской (*P. canadensis*), пихты одноцветной (*Abies concolor*) и

пихты бальзамической (*A. balsamea*). Отмечалось усыхание концов побегов и осыпание хвои, на коре, почках, у основания хвоинок образовывались немногочисленные плодовые тела, засмоление и некроз коры не были явно выражены. На растущих по соседству хорошо развитых молодых и старых деревьях ели и пихты диплодиоз не был выявлен.

Таким образом, в последние десятилетия в связи с поступлением в страну большого количества импортного посадочного материала и изменением климата активно идет процесс заноса и распространения новых опасных видов патогенных грибов в лесные и городские насаждения. Гриб *Sphaeropsis sapinea* в европейских странах относят к опасным видам патогенов, вредоносность его с каждым годом возрастает, патоген представляет угрозу не только для интродуцентов, но и для местных видов хвойных растений. Чтобы снизить риски внедрения инвазивных видов патогенов в насаждения республики, необходимо расширять исследования по своевременному выявлению опасных грибных болезней, разрабатывать и совершенствовать мероприятия по ограничению их дальнейшего распространения в республике.

Список литературы

1. Чужеродные виды на территории России. — URL: <http://www.sevin.ru/invasive> (дата обращения: 09.02.2020).
2. Жуков А.М., Гниненко Ю.И. Развитие лесной фитопатологии и новые угрозы для лесов России // Лесохозяйственная информация. — 2014. — № 4. — С. 13–24.
3. Интерактивный мультимедийный определитель наиболее распространенных болезней в лесном фонде, питомниках и дендропарках. — URL: <http://cd.intelico.info/> (дата обращения: 15.03.2018).
4. Азовская Н.О. Основные метеорологические предикторы возникновения эпифитотий диплодиоза / Сахаровские чтения: экологические проблемы XXI века: матер. 12-й Междунар. науч. конф., Минск, 17–18 мая 2012 г. — Минск: МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2012. — С. 180.
5. Головченко Л.А., Дишук Н.Г. Болезни хвойных растений в насаждениях Беларуси // Субтропическое и декоративное садоводство: сб. науч. тр. — 2017. — Вып. 63. — С. 159–165.
6. Методы экспериментальной микологии: Справочник / И.А. Дудка [и др.]; под общ. ред. В.И. Билай. — Киев: Наукова думка, 1982. — 550 с.
7. Index Fungorum. — URL: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp> (дата обращения: 21.02.2020).

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА GERANIUM

Элоян И.М., Погосян А.В., Адамян Р.Г.
Ереванский государственный университет, Армения

В последнее время возрастает интерес к изучению биологических свойств лекарственных растений с целью борьбы с возбудителями грибковых заболеваний человека. Актуальным является поиск малотоксичных эффективных средств растительного происхождения, поскольку синтетические противогрибковые средства обладают многочисленными противопоказаниями к применению (Марьян, Коломиец, 2017).

В народной медицине некоторые виды рода *Geranium* издавна использовались как противомикробные и противовоспалительные средства. Благодаря содержанию в них активного комплекса вторичных метаболитов они широко используются и в традиционной медицине (Адамян и др., 2017). В результате ряда исследований выявлены фитохимические свойства и биологическая активность представителей данного рода. Отмечено, что благодаря фенольным соединениям, в частности флавоноидам, твердо-жидкий экстракт видов рода проявил высокую антиоксидантную и антимикробную активности в борьбе с патогенными возбудителями. Дальнейшие микробиологические исследования также выявили наличие антимикробной и антигрибковой активности у эфирных масел ряда видов рода *Geranium* по отношению к *Escherichia coli* и *Aspergillus fumigatus* (Graça et al., 2016). Доказана противогрибковая активность эфирного масла герани по отношению к дрожжеподобным грибам *Candida*, что свидетельствует об эффективности применения эфирного масла герани при профилактике или лечении кандидоза (Caio et al., 2016).

Цель нашей работы заключалась в определении антифунгальной активности эфирных масел некоторых лекарственных растений семейства Geraniaceae.

Материалом для исследований послужили приобретенные из аптечной сети города Еревана эфирные масла гераниевых: *Geranium essential oil* (фирма «Adele», Израиль), *Pelargonium roseum* (фирма «Ботаника», РФ). Оценка антифунгальной активности проводилась по отношению к следующим патогенным видам грибов: *Penicillium cyclopium*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*,

выделенных из микобиоты воздуха книгохранилищ Ереванского государственного университета.

Антифунгальное воздействие эфирных масел оценивалось диско-диффузным методом, согласно которому активность определялась на основании диаметра зоны ингибиции роста «газона» микроорганизмов. Данный метод предназначен только для быстрорастущих микроорганизмов, в частности грибов, которые вызывают повсеместный рост после 18–20 часов инкубации.

Нами проводился посев выбранных микроорганизмов на питательную среду в чашках Петри. Диски фильтровальной бумаги, смоченные в эфирном масле, в качестве ингибитора, помещались на питательную среду. В процессе эксперимента наблюдался рост гриба на питательной среде и диффузия ингибитора с диска (Методы экспериментальной микологии, 1982; Mueller et al., 2004).

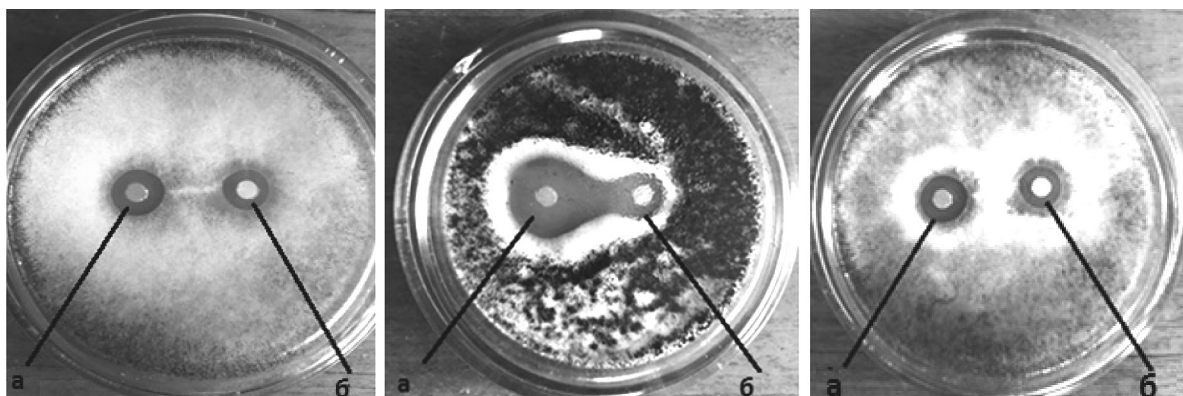
В результате исследований была установлена антифунгальная активность эфирного масла герани. Как свидетельствуют данные рисунков, эфирное масло российского производства (а) проявило сравнительно большую антифунгальную активность, чем эфирное масло израильского производства (б) по отношению к грибам *Rhizopus stolonifer* (рис. 1), *Aspergillus niger* (рис. 2), *Penicillium cyclopium* (рис. 3).

Важным показателем выявления антифунгальной активности эфирных масел является их подавляющее воздействие на рост мицелиальных грибов различных систематических групп. Исследуемые нами виды относятся к отделам Mucoromycota (1 вид) и Ascomycota (2 вида). Как известно, в помещениях доля теплолюбивых видов рода *Aspergillus*, постоянно присутствующих в воздухе, увеличивается по сравнению с внешней средой. Учитывая то, что состав эфирных масел может меняться в зависимости от периода вегетации, целесообразно выявить разные составы эфирных масел герани, которые будут подавлять рост различных патогенных микроспоридий.

Как показали результаты, на рост потенциально патогенного и агрессивного вида *Aspergillus niger*, наи-

Рис. 1 — *Rhizopus stolonifer*Рис. 2 — *Aspergillus niger*Рис. 3 — *Penicillium cyclopium*

а — российского производства, б — израильского производства



большее воздействие имело эфирное масло *Pelargonium roseum* производства РФ.

Известно, что присутствие плесневых грибов и их метаболитов в окружающей среде человека, может оказывать токсическое воздействие, вызывать аллергические реакции, способствовать развитию различных микозов и микотоксикозов. Вследствие чего, результаты полученных данных можно использовать в разработке биологических мер борьбы с возбудителями грибковых заболеваний человека, а также использовать для снижения загрязненности воздуха в различных помещениях.

Список литературы

1. Марьин А.А., Коломиец Н.Э. Лекарственные растения и биологически активные вещества противогрибкового действия // *Фундаментальная и клиническая медицина*, т. 2, № 4, 2017, с. 45–55.
2. Адамян Р.Г., Нанагюлян С.Г., Погосян А.В., Закарян Н.А. Лекарственные виды семейства Geraniaceae Juss. в научной и традиционной медицине // *Мат. док. 6-й Международной конф. “Современные проблемы беспочвенной (гидропонической) и тканевой in vitro культур растений”*, посв. 70-летию основания инст-та, 23–21 сентября, Ереван, 2017, с. 137–142.
3. Graça V.C., Isabel C.F.R., Ferreira P.F. et al. Caracterização nutricional e propriedades bioativas de *Geranium robertianum* L.: da planta à fração mais bioativa. In XXII Encontro Luso-Galego de Química. Bragança, 2016.
4. Caio M., Cury S., Silvio A. et al. Antifungal activity of plant-derived essential oils on *Candida tropicalis* planktonic and biofilms cells // *Medical Mycology*, Vol. 54, Issue 5, 1 July 2016, p. 515–523.
5. Методы экспериментальной микологии: Справочник. /Под ред. Б.И. Билай/ Киев, Наук. Думка, 1982, 350 с.
6. Mueller G.M., Bills G.F., Foster M.S. Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. Elsevier Press, 2004, 777 p.

ВИТАЛЬНЫЕ ОБЛИГАТЫ АУТОМИКО- И МИКРОБИОТЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ СИСТЕМНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

Гойчук А.Ф., Кульбанская И.Н.

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

Мико- и микроорганизмы — неотъемлемая часть лесного биоценоза, определяющая его глубину, принимающая непосредственное участие на всех этапах роста и развития древесных растений и утилизации мортмассы и детрита. Среди систематических и функциональных групп мико- и микробиоты особое место занимают фитопатогенные эндофиты различной трофической специализации, способные при определенных условиях наносить существенный экологический, экономический и социальный ущерб, что подтверждается глубокой патологией с массовым (эпифитотийным) усыханием многих видов древесных растений (сосна обыкновенная, ель европейская, береза повислая, ясень обыкновенный, в несколько меньших объемах дуб обыкновенный, пихта белая, осина, граб обыкновенный) как на территории Украины, так и за ее пределами. Несмотря на то, что в последние годы наблюдается некоторая активность в изучении эндофитных грибов и бактерий, для которых здоровые растения, в том числе и древесные, являются естественной средой обитания, и сегодня их системная биоэкологическая роль в жизни растений, в том числе и в возникновении и течении патологического процесса, изучена недостаточно, хотя высказываются предположения о том, что эндофитизм, во всяком случае в лесных экосистемах, является феноменом всеобщим (Краснов и др., 2007), базирующимся в здоровых растениях на мутуалистических отношениях с другими компонентами аутомико- и микробиоты и с растением в конкретных лесорастительных условиях. Нами из здоровых вегетативных и генеративных органов лесных древесных растений (береза повислая, ясень

обыкновенный, пихта белая) в минорных количествах изолированы так называемые витальные облигаты (от лат. *vitalis* — прижизненный, *obligatia* — обязательный) (Гвоздяк, 2005) — фитопатогенная компонента эндофитных микромицетов и бактерий, являющихся латентными патогенами растений (Гвоздяк и др., 2011, Goychuk et al., 2019). В нормальных условиях витальные облигаты выполняют широкий спектр полезных функций: сопровождают древесные растения с поколения в поколения, берут непосредственное участие в метаболических процессах растений, стимулируют их рост и развитие, повышают стойкость к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам.

Эндофиты, в том числе и витальные облигаты, древесных растений представлены действительными фитопатогенными бактериями — полибиотрофами *Pseudomonas* sp., *P. syringae*, *Lelliottii nimipressuralis* (син. *Enterobacter nimipressuralis*, *Erwinia nimipressuralis*), проявившими патогенность в эксперименте, условно патогенные (*P. fluorescens*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pantoea agglomerans*) и сапротрофные бактерии, в частности *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, а также анаморфные микромицеты *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium* sp., *F. heterosporum*, *Ulocladium botrytis*, *Phoma* sp., *Penicillium* sp. и др. (Гвоздяк и др., 2011, Goychuk et al., 2019).

Изучение механизмов системных взаимоотношений составляющих аутомико- и микробиоту древесных растений в регуляции (саморегуляции) патогенности и агрессивности витальных облигатов является весьма важным не только в понимании общебиологических

проблем, но и при прогнозировании болезней, теоретическом обосновании и практическом применении антагонистических свойств, в том числе с выявлением и использованием активных антагонистов, в ограничении тех или иных патологий.

Взаимоотношения между различными видами эндофитных микромицетов и бактерий изучали методом перпендикулярных штрихов. Учет результатов проводили на 2 и 6 сутки с констатацией наличия или отсутствия роста тестовой культуры. Степень антагонистической активности штаммов определяли по зонам задержки роста культур фитопатогенных бактерий (витальных облигатов). Для определения антагонистических взаимоотношений между витальными облигатами использовали как изолированные нами микромицеты и бактерии, так и коллекционные штаммы отдела фитопатогенных бактерий Института микробиологии и вирусологии НАН Украины, в частности *Pseudomonas syringae* 8511, *Pseudomonas savastanoi* 9174, *Pseudomonas fluorescens* 8573, *Erwinia carotovora* 8982.

Установлено, что изолированные нами фитопатогенные эндофитные бактерии аутомикроботы не проявили антагонистической активности как между собой, так и по отношению к тестовым культурам бактерий. В отличие от бактерий, микромицетам (*Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium* sp., *F. heterosporum*, *F. sporotrichiella*, *Ulocladium botrytis*, *Phoma* sp., *Penicillium* sp.) присуща большая активность к фитопатогенным бактериям (витальным облигатам). В частности, наиболее активными были *U. botrytis* (средняя стерильная зона — 5,8 мм) и *C. cladosporioides* (средняя стерильная зона — 4,9 мм). Активность некоторых других видов грибов (*A. strictum*, *F. heterosporum* и *F. sporotrichiella*) была избирательной. Они не ограничивали рост *Pseudomonas* sp. и *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* (изолирована из семян) и слабо угнетали *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* и коллекционный *Pseudomonas savastanoi* 9174. Нами не обнаружено значимого влияния фитопатогенных бактерий, в т.ч. витальных облигатов, на эндофитные микромицеты. Незначительные зоны влияния бактерий на микромицеты свидетельствуют о том, что в природе фитопатогенные бактерии за пределами па-

тологического процесса не влияют на рост микромицетов, что нашло подтверждение в наших работах с эндофитами других древесных растений (Гвоздяк и др., 2011, Goychuk et al., 2019).

Обобщая изложенное в сочетании с критическим анализом литературы относительно системного взаимодействия эндофитов аутомико- и микробиоты древесных растений в системе «бактерия-бактерия», «бактерия-микромицет» следует отметить, что не смотря на низкую антагонистическую активность представителей аутомико- и микробной ассоциации к фитопатогенным бактериям, их суммарная антагонистическая активность достаточна для удерживания витальных облигатов на низком уровне, что при нормальном росте и развитии растений является их естественным состоянием. При нарушении системных взаимодействий в растении и, в первую очередь, при нарушении метаболических процессов, которые лежат в основе любого патологического процесса, под воздействием различных (часто не до конца выясненных) факторов, эндофитные витальные облигаты аутомико- и микроорганизмы способны вызвать инфекционную патологию растений без участия внешних инфекционных агентов.

Список литературы

1. Краснов В. П., Орлов А. А., Бузун В. А., Ландин В. П., Шелест З. М. Прикладная радиоэкология леса // Монография. Житомир: «Полесье», 2007. 680 с.
2. Гвоздяк Р. И. Перспективные направления исследования фитопатогенных бактерий // Фитопатогенные бактерии. Фитонцидология. Алеропатия: 36 статей междунар. научн. конф.- Житомир: ДАУ, 2005. С. 3–8.
3. Гвоздяк Р. И., Гойчук А. Ф., Розенфельд В. В., Пасечник Л. А. Бактериальные болезни сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и микрофлора ее семян // Монография. Житомир: Полесье, 2011. 224 с.
4. Goychuk A. , Drozda V.F., Kulbanska I.M., Shvets M.V. Phytopathogenic bacteria in the pathology of forest trees of Polysya and Forest-steppe of Ukraine. Вестник аграрной науки Причерноморья. Выпуск 2(102). 2019. С. 28–33. DOI: 10.31521/2313–092X/2019–2(102)–4.

АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ НА *JUNIPERUS OBLONGA* НА ТЕРРИТОРИИ ПЛАТО ГУНИБ (ВНУТРИГОРНЫЙ ДАГЕСТАН)

Иванушенко Ю.Ю.¹, Волобуев С.В.²

¹Дагестанский государственный университет, Махачкала

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

Род *Juniperus* L. является самым крупным в семействе Кипарисовых (Cupressaceae) и включает около 75 видов, относящихся к 3 секциям (Adams, 2014). Одним из широко распространенных на Кавказе представителей рода *Juniperus* является можжевельник продолговатый, или длиннолистный (*Juniperus oblonga* M. Vieb.), произрастающий от Прикаспийской низменности до субальпийских высот Кавказа (Садыкова, 2010). R.P.

Adams (2014) указывает для Армении вид *J. oblonga* в качестве разновидности *J. communis* var. *oblonga* Loudon. В настоящем исследовании *J. oblonga* рассматривается как самостоятельный вид (Галушко, 1978; Муртазалиев, 2009; Садыкова, 2010). В Дагестане можжевельниковые редколесья можно обнаружить во всех геоморфологических районах республики. *J. oblonga* занимает обширные площади во Внутригорном и Высокогорном Дагестане

(Садыкова, 2010). При этом род *Juniperus* в Республике Дагестан помимо вышеуказанного вида представлен еще 5 видами: *J. foetidissima* Willd., *J. hemisphaerica* C. Presl, *J. oxycedrus* L., *J. polycarpos* K. Koch и *J. sabina* L. (Муртазалиев, 2009; Садыкова, 2010).

J. oblonga обладает ценными лекарственными свойствами и находит применение в медицине и фармакологии, обусловленное содержанием во всех органах растения эфирного масла (Садыкова, 2010), что в свою очередь определяет специфические особенности древесины и набор адаптированных к развитию на ней видов ксилобионтных грибов. К настоящему времени специальных работ, посвященных афиллофороидным грибам, обитающим на видах рода *Juniperus* немного (Karadelev, 1995; Bernicchia, 2000; Belomesyatseva, 2002; Sell, Kotiranta, 2011), для Дагестана такого рода исследования отсутствуют. В связи с этим целью данной работы стало выявление видового разнообразия афиллофороидных грибов, растущих на древесине *Juniperus oblonga* (гунибская популяция) в условиях плато Гуниб.

Сбор материала был проведен по стандартным методикам (Ивойлов и др., 2017) в октябре 2018–2019 гг. и мае-июле 2019 г. в ходе маршрутного обследования природного парка «Верхний Гуниб» и территории экспериментальной базы Горного ботанического сада ДФИЦ РАН, расположенных на Гунибском плато (Внутригорный Дагестан) в диапазоне высот 1630–1910 м над ур. м. Идентификация собранного материала проведена методами световой микроскопии в лаборатории систематики и географии грибов БИН РАН. Изученные образцы инсерированы в основной фонд Микологического гербария БИН РАН (LE).

Климатические показатели плато характеризуются как континентальные. В течение года осадки выпадают неравномерно. Наибольшее их количество выпадает в летние месяцы (80–90%). Среднегодовая температура воздуха +6,7 °С с максимумом в июле-августе, со средней максимальной +12,3 °С и средней минимальной +2,8 °С. Период положительных температур воздуха длится в среднем 270 дней (Садыкова, Асадулаев, 2008; Садыкова, 2019).

Как отмечает Г.А. Садыкова (2010), условия природного парка «Верхний Гуниб» являются оптимальными для развития *J. oblonga*. В лесах Гунибского плато можжевельник продолговатый входит в состав фитоценозов, которые образуют *Pinus kochiana* Klotzsch ex K. Koch, *Betula litwinowii* Doluch., *B. pendula* Roth, *B. raddeana* Trautv., с примесью *Salix caprea* L., *Populus tremula* L., *Carpinus caucasica* Grossh., *Acer campestre* L., *Sorbus torminalis* (L.) Crantz, *Tilia cordata* Mill. и др.

В результате проведенных микологических исследований было выявлено 18 видов афиллофороидных грибов, произрастающих на древесине *Juniperus oblonga* в условиях плато Гуниб. 17 видов являются новыми для территории Гунибского плато, из них 13 видов впервые приведены для Республики Дагестан, в том числе вид *Rhizoctonia ochracea* отмечен третьей находкой для России. Новые для Дагестана виды отмечены звездочкой (*). Названия видов приведены в соответствии с электронным ресурсом «Index Fungorum» (2020).

**Amphinema byssoides* (Pers.) J. Erikss. — в березняке травяном, сосняке с березой травяно-зеленомошном,

на валежных ветвях *Juniperus oblonga*, октябрь 2018–2019 гг.

**Brevicellicium olivascens* (Bres.) K.H. Larss. & Hjortstam — в березняке травяном, на валежных ветвях *J. oblonga*, октябрь 2018 г.

**Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. — в сосняке с березой травяно-зеленомошном, на сухостое *J. oblonga*, май 2019 г.

**Hyphodontia arguta* (Fr.) J. Erikss. — в можжевельниковом криволесье, березняке с можжевельником травяно-папоротниковом, на валежных стволах и ветвях, а также на живом *J. oblonga*, май 2019 г.

Irpex lacteus (Fr.) Fr. — в сосняке с березой травяном, на сухих ветвях *J. oblonga*, октябрь 2019 г. Вид ранее был отмечен авторами также на валежных стволах *Betula* sp. и *Alnus* sp. (Иванушенко и др., 2019).

**Lyomyces juniperi* (Bourdot & Galzin) Riebesehl & Langer — в сосняках с березой травяно-зеленомошных, можжевельниковом криволесье, березняках с можжевельником травяно-папоротниковом и разнотравном, березняке с грабом травяном, осинниках с грабом травяном и травяно-зеленомошном, грабовнике с березой низкопокровном, на валежных стволах и ветвях, сухостое и на коре живого *J. oblonga*, находки были отмечены за весь период исследований.

**Peniophora junipericola* J. Erikss. — в можжевельниковом криволесье, березняках с можжевельником травяно-папоротниковых, сосняках с березой травяном и травяно-зеленомошном, грабовнике с березой низкопокровном, на валежных и сухостойных стволах, а также на живом *J. oblonga*. Находки были отмечены за весь период исследований.

**Postia lactea* (Fr.) P. Karst. — в березняке травяном, на валежных ветвях *J. oblonga*, октябрь 2018 г.

**Radulomyces confluens* (Fr.) M.P. Christ. — в березняке травяно-папоротниковом, на валежном стволе *J. oblonga*, май 2019 г.

**Rhizoctonia ochracea* (Masse) Oberw., R. Bauer, Garnica & R. Kirschner — в сосняке с березой травяно-зеленомошном, на валежных ветвях *J. oblonga*, сентябрь 2019 г., третья находка для России. Ранее вид отмечен для Алтая (Roberts, 1998) и Свердловской области (Ширяев, Ставищенко, 2011).

**Rhizoctonia fusispora* (J. Schröt.) Oberw., R. Bauer, Garnica & R. Kirschner — в сосняке травяно-зеленомошном, на валежном стволе *J. oblonga*, сентябрь 2019 г.

Schizophyllum commune Fr. — в березняке с сосной травяном, на валежном стволе *J. oblonga*, сентябрь 2019 г.

**Steccherinum fimbriatum* (Pers.) J. Erikss. — в березняке разнотравном и сосняке травяно-зеленомошном, на валежных стволах и ветвях *J. oblonga*, сентябрь 2019 г.

Tomentella ferruginea (Pers.) Pat. — в березняке травяном, на валежных ветвях *J. oblonga*, октябрь 2018 г.

**Tomentella atramentaria* Rostr. — в березняке травяном, на валежных ветвях *J. oblonga*, октябрь 2018 г.

**Tomentella badia* (Link) Stalpers — в сосняке травяно-зеленомошном, на валежном стволе *J. oblonga*, сентябрь 2019 г.

Tomentella subtestacea Bourdot & Galzin — в можжевельниковом криволесье, на валежном стволе *J. oblonga*, май 2019 г.

Trechispora microspora (P. Karst.) Liberta — в березняке травяном, на валежных ветвях *J. oblonga*, октябрь 2018 г.

Наибольшая встречаемость характерна для двух видов — *Lyomyces juniperi* (28 находок) и *Peniophora junipericola* (15 находок). Небольшим числом находок были отмечены 3 вида грибов *Huiphodontia arguta* (4), *Steccherinum fimbriatum* (3) и *Amphinema byssoides* (2). К редким, отмеченным единичной находкой, относятся 13 видов: *Brevicellicium olivascens*, *Heterobasidion annosum*, *Irpex lacteus*, *Postia lactea*, *Radulomyces confluens*, *Rhizoctonia fusispora*, *Rh. ochracea*, *Schizophyllum commune*, *Tomentella atramentaria*, *T. badia*, *T. ferruginea*, *T. subtestacea* и *Trechispora microspora*.

Из выявленных видов афиллофороидных грибов только *Lyomyces juniperi* и *Peniophora junipericola* растут преимущественно или исключительно на различных видах рода *Juniperus* (Karadelev, 1995).

К эвритрофам (видам, развивающимся на хвойных породах) можно отнести *Amphinema byssoides* и *Heterobasidion annosum*. Большинство видов относятся к пантотрофам, т. е. группе видов, адаптированных к развитию как на древесине хвойных, так и лиственных пород (Волобуев, 2015): *Rhizoctonia fusispora*, *Rh. ochracea*, *Schizophyllum commune*, *Tomentella atramentaria*, *T. badia*, *T. ferruginea*, *T. subtestacea*, *Trechispora microspora* и другие. При этом для ряда видов характерна более частая встречаемость на лиственных древесных породах, и лишь единичные образцы собраны с древесины хвойных: *Brevicellicium olivascens*, *Huiphodontia arguta*, *Irpex lacteus*, *Postia lactea*, *Radulomyces confluens*, *Steccherinum fimbriatum*.

Все выявленные виды можно разделить на две эколого-трофические группы: сапротрофы и факультативные патогены. К сапротрофам отнесено 15 видов, к факультативным патогенам — 3 вида, среди которых *Lyomyces juniperi*, *Peniophora junipericola* и *Huiphodontia arguta*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 19-77-00085).

Список литературы

1. Adams R.P. Junipers of the World: The Genus *Juniperus*, 4th Ed. Bloomington: Trafford Publishing Co., 2014. 415 p.
2. Садыкова Г.А. Структурная и ресурсная оценка природных популяций можжевельника продолговатого (*Juniperus oblonga* Bieb.) в Дагестане: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Махачкала, 2010. 23 с.
3. Галушко А.И. Флора Северного Кавказа. Определитель: в 3 т. Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского университета, 1978. Т. 1. 320 с.
4. Муртузалиев Р.А. Конспект флоры Дагестана в 3 т.: Т. 1. (Lycopodiaceae — Urticaceae) / Отв. ред. чл.-корр. РАН Р.В. Камелин. Махачкала: Издательский дом «Эпоха», 2009. 252 с.
5. Karadelev M. Lignicolous aphyliophorales (Basidiomycetes) on Greek juniper (*Juniperus excelsa*) in the Republic of Macedonia // Mycotaxon. 1995. V. LVI. P. 467–472.
6. Bernicchia A. Wood-inhabiting aphyllphoraceous fungi on *Juniperus* spp. in Italy // Mycotaxon. 2000. V. 75. P. 241–256.
7. Belomesyatseva D.B. The fungi in the consortium of common juniper in Belarus // Mycena. 2002. V. 2. Iss. 1. P. 4–16.
8. Sell I., Kotiranta H. Diversity and distribution of aphyllphoroid fungi growing on Common Juniper (*Juniperus communis* L.) in Estonia // Folia Cryptog. Estonica, Fasc. 2011. V. 48. P. 73–84.
9. Ивойлов А.В., Большаков С.Ю., Силаева Т.Б. Изучение видового разнообразия макромицетов: учебное пособие. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2017. 160 с.
10. Index Fungorum. URL: <http://www.indexfungorum.org> (дата обращения: 27.02.2020)
11. Садыкова Г.А., Асадулаев З.М. Характер и темпы роста побегов *Juniperus oblonga* (Bieb.) на Гунибском плато (Дагестан) // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы всероссийской конференции (Петрозаводск, 22–27 сентября 2008 г.). Часть 1: Структурная ботаника. Эмбриология и репродуктивная биология. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2008. С. 223–226.
12. Садыкова Г.А. Всхожесть семян и динамика роста *Juniperus polycarpus* C. Koch в условиях интродукции // Ботанический вестник Северного Кавказа. 2019. №1. С. 46–53.
13. Иванушенко Ю.Ю., Исмаилов А.Б., Волобуев С.В. Первые сведения о трутовых грибах плато Гуниб // Материалы XXI Международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России», г. Магас, 15–18 ноября 2019 г. С. 163–166.
14. Roberts P. Thanatephorus ochraceus: a saprotrophic and orchid endomycorrhizal species // Sydowia. 1998. V. 50, № 2. P. 252–256.
15. Ширяев А.Г., Ставищенко И.В. Новые и редкие для Свердловской области виды базидиальных грибов // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45, вып. 4. С. 345–349.
16. Волобуев С.В. Афиллофороидные грибы Орловской области: таксономический состав, распространение, экология. СПб: Издательство «Лань», 2015. 304 с.

КСИЛОТРОФНЫЕ ГРИБЫ РЕСПУБЛИКИ АБХАЗИЯ АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДРЕВЕСИНОЙ ПИХТЫ (*ABIES NORDMANNIANA*)

Хачева С.И.

Институт экологии Академии наук Абхазии, Сухум
Абхазский Государственный университет, Сухум

Республика Абхазия — это своеобразная горная страна, характеризующаяся исключительным разнообразием природных ландшафтов. Сложность рельефа, разнообразные климатические условия обуславливают своеобразность течения процессов формирования ландшафта. В результате длительной истории развития сложился растительный покров Абхазии, оригинальный по своему флористическому составу, богатый по количеству видов и древний по происхождению. Вертикальные пояса растительного покрова имеют неодинаковое флористическое богатство, причина чего лежит не только в сложности истории формирования, но и в разнообразии современных физико-географических условий. Зона горных лесов Абхазии простирается от 650 м до 1700–2100 метров над уровнем моря. Основными эдификаторами являются *Abies nordmanniana* (Stev.) Sprach, *Fagus orientalis* Lipsky, сопутствующими породами в нижней части зоны является *Carpinus caucasica* Grossh. [1].

Исследования биоты ксилотрофных грибов проводились в массивах старо возрастных буково-пихтовых лесов западной части Абхазии, начиная с отметки высот от 800 до 1650 метров над уровнем моря. Целью исследований являлось выявление биоразнообразия ксилотрофных грибов, приуроченных к древесине пихты и определение трофической принадлежности выявленных видов. Инвентаризация биоты ксилотрофных грибов лесных формаций Абхазии проводилась по стандартным методикам [2].

В результате проведенных исследований выявлено 97 видов ксилотрофных макромицетов, которые относятся к 62 родам, 26 семействам, 9 порядкам (табл. 1). По числу видов доминируют порядки *Polyporales* (57 видов), *Russulales* (9), *Hymenochaetales* (8), *Gloeophyllales* (8), на долю которых приходится 82 вида или 84,5% от общего их числа. В остальные порядки входит менее 8 видов. Наибольшее число родов отмечается в следующих семействах: *Polyporaceae* (10 родов), *Fomitopsidaceae* (10), *Meruliaceae* (6), что составляет 42% от выявленного количества родов. К наиболее крупным родам, на-

считывающих более 4 видов, относятся *Phlebia*, *Postia*, которые включают 10 видов, т. е. 10,3% всего видового разнообразия. Число родов, содержащих от 2 до 4 видов, насчитывает 16, и включает 43 вида, что составляет 44,3% от выявленной части микобиоты. Остальные 44 рода содержат по 1 виду, что составляет 45,4% изученной биоты ксилотрофных грибов.

По трофической принадлежности афиллофоровые грибы разделяются на группы сапротрофов, патогенов, факультативных сапротрофов и факультативных паразитов. Разделение макромицетов на группы по способу питания указывает на их функциональную роль в структуре биоценоза, а видовое разнообразие ксилотрофов определяется субстратом, находящимся в различном состоянии [3].

Сапротрофы на валежной древесине занимают практически все экологические ниши (крупномерные стволы деревьев, отпавшие ветви, мелкий древесный детрит и т. д.) и насчитывают 82 вида. Основными редуцентами *Abies nordmanniana*, проявляющими наибольшую деструктивную активность являются: *Fomitopsis pinicola*, *Gloeophyllum odoratum*, *Phellinus hartigii*, *Ischnoderma benzoinum*, *Rhodofomes roseus*. К факультативным паразитам относятся: *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum*, *G. carnosum*, *G. lucidum*, *Hericium coralloides*. Факультативными сапротрофами являются: *Heterobasidion annosum*, *Lentinus substrictus*, *Phellinus hartigii*, *Sparassia crispa*, *S. laminosa*, *Stereum hirsutum*, *Trametes gibbosa*. Патогеном, выявленным на стволах живых деревьев *Abies nordmanniana* является: *Phellinus chrysoloma*. На корнях *Abies nordmanniana* паразитируют *Bondarzewia mesenterica*, *Phaeolus schweinitzii*.

Проведенные исследования свидетельствуют о доминировании сапротрофов (84,5% от общего количества видов), что подтверждает важную биосферную роль грибов как редуцентов органического вещества, главным образом, «законсервированного» в недоступной для многих живых организмов форме лигноцеллюлозных комплексов.

Табл. 1. Таксономическая структура грибов, выявленных на древесине пихты и их распределение по трофическим группам

Таксон	Трофическая группа			
	Сапротрофы	Факультативные паразиты	Факультативные сапротрофы	Патогены
Отдел BASIDIOMYCOTA. Класс AGARICOMYCETES. Порядок AGARICALES. Семейство <i>Cystostereaceae</i>				
<i>Cystostereum murrayi</i> (Berk. et M. A. Curtis) Pouzar	+			
<i>Crustomyces subabruptus</i> (Bourdot et Galzin) Jülich	+			
Семейство <i>Marasmiaceae</i>				
<i>Henningsomyces candidus</i> (Pers.) Kuntze	+			
Семейство <i>Physalacriaceae</i>				

Продолжение таблицы

Таксон	Трофическая группа			
	Са-протрофы	Факультативные паразиты	Факультативные сапротрофы	Патогены
<i>Armillaria mellea</i> (Vahl) P. Kumm	+			
<i>Cylindrobasidium evolvens</i> (Fr.) Jülich	+			
Семейство <i>Pterulaceae</i>				
<i>Radulomyces molaris</i> (Chaillat ex Fr.) M. P. Christ.	+			
Порядок <i>ATHELIALES</i> . Семейство <i>Atheliaceae</i>				
<i>Piloderma bicolor</i> (Peck) Jülich	+			
Порядок <i>BOLETALES</i> . Семейство <i>Coniophoraceae</i>				
<i>Coniophora olivacea</i> (Fr.) P. Karst.	+			
<i>C. puteana</i> (Schumach.) P. Karst.	+			
Семейство <i>Tapinellaceae</i>				
<i>Pseudomerulius aureus</i> (Fr.) Jülich	+			
Порядок <i>GLOEOPHYLLALES</i> . Семейство <i>Gloeophyllaceae</i>				
<i>Gloeophyllum abietinum</i> (Bull.) P. Karst.	+			
<i>G. odoratum</i> (Wulfen) Imazeki	+			
<i>G. sepiarium</i> (Wulfen) P. Karst.	+			
<i>G. trabeum</i> (Pers.) Murrill	+			
Семейство <i>Gomphaceae</i>				
<i>Ramaria aurea</i> (Schaeff.) Quél.	+			
<i>R. flava</i> (Schaeff.) Quél.	+			
<i>R. fumigata</i> (Peck) Corner	+			
<i>R. subbotrytis</i> (Coker) Corner	+			
Порядок <i>HYMENOGYALES</i> . Семейство <i>Hymenochaetaceae</i>				
<i>Hymenochaete cruenta</i> (Pers.) Donk	+			
<i>Onnia tomentosa</i> (Fr.) P. Karst.	+			
<i>Phellinus chrysoloma</i> (Fr.) Donk				+
<i>Ph. hartigii</i> (Allesch. et Schnabl) Pat.			+	
Семейство <i>Repetobasidiaceae</i>				
<i>Resinicium bicolor</i> (Alb. et Schwein.) Parmasto	+			
Семейство <i>Schizoporaceae</i>				
<i>Hyphodontia spathulata</i> (Schrad.) Parmasto	+			
<i>Oxyporus corticola</i> (Fr.) Ryvarden	+			
<i>Xylodon brevisetus</i> (P. Karst.) Hjortstam et Ryvarden	+			
Порядок <i>POLYPORALES</i> . Семейство <i>Fomitopsidaceae</i>				
<i>Amyloporia crassa</i> (P. Karst.) Bondartsev et Singer	+			
<i>A. sinuosa</i> (Fr.) Rajchenb., Gorjón et Pildain	+			
<i>Crustoderma dryinum</i> (Berk. et M. A. Curtis) Parmasto	+			
<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw.) P. Karst.	+	+		
<i>Ischnoderma benzoinum</i> (Wahlenb.) P. Karst.	+			
<i>Neoantrodia serialis</i> (Fr.) Audet	+			
<i>Phaeolus schweinitzii</i> (Fr.) Pat.				+
<i>Podofomes trogii</i> (Fr.) Pouzar	+			
<i>Postia caesia</i> (Schrad.) P. Karst.	+			
<i>P. floriformis</i> (Quél.) Jülich	+			
<i>P. fragilis</i> (Fr.) Jülich	+			
<i>P. tychogaster</i> (F. Ludw.) Vesterh.	+			
<i>P. stiptica</i> (Pers.) Jülich	+			
<i>Рычнопореллус беловатый</i> (Ellis et Everh.) Kotl. et Pouzar	+			
<i>P. fulgens</i> (Fr.) Donk	+			
<i>Rhodofomes roseus</i> (Alb. et Schwein.) Vlasák	+			

Продолжение таблицы

Таксон	Трофическая группа			
	Са-протрофы	Факультативные паразиты	Факультативные сапротрофы	Патогены
Семейство <i>Ganodermataceae</i>				
<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.		+		
<i>G. carnosum</i> Pat.		+		
<i>G. lucidum</i> (Curtis) P. Karst.		+		
Семейство <i>Meripilaceae</i>				
<i>Rigidoporus crocatus</i> (Pat.) Ryvarden	+			
<i>R. sanguinolentus</i> (Alb. et Schwein.) Donk	+			
<i>Physisporinus vitreus</i> (Pers.) P. Karst.	+			
Семейство <i>Meruliaceae</i>				
<i>Bjerkandera adusta</i> (Willd.) P. Karst.	+			
<i>B. fumosa</i> (Pers.) P. Karst.	+			
<i>Hypochnicium caucasicum</i> Parmasto	+			
<i>Irpex lacteus</i> (Fr.) Fr.	+			
<i>Junghuhnia nitida</i> (Pers.) Ryvarden	+			
<i>Phlebia centrifuga</i> P. Karst.	+			
<i>Ph. livida</i> (Pers.) Bres.	+			
<i>Ph. rufa</i> (Pers.) M. P. Christ.	+			
<i>Ph. tremellosa</i> (Schrud.) Nakasone et Burds.	+			
<i>Ph. tuberculata</i> (Berk. et M.A. Curtis) Tura, Zmitr., Wasser et Spirin	+			
<i>Steccherinum bourdotii</i> Saliba et A. David	+			
<i>S. fimbriatum</i> (Pers.) J. Erikss.	+			
<i>S. ochraceum</i> (Pers.) Gray	+			
<i>S. tenuispinum</i> Spirin, Zmitr. & Malysheva	+			
Семейство <i>Phanerochaetaceae</i>				
<i>Antrodiella fissiliformis</i> (Pilát) Gilb. et Ryvarden	+			
<i>Ceriporia purpurea</i> (Fr.) Donk	+			
<i>C. tarda</i> (Berk.) Ginns	+			
<i>C. viridans</i> (Berk. et Broome) Donk	+			
<i>Phlebiopsis gigantea</i> (Fr.) Jülich	+			
<i>Phanerochaete laevis</i> (Fr.) J. Erikss. et Ryvarden	+			
Семейство <i>Polyporaceae</i>				
<i>Erastia salmonicolor</i> (Berk. et M. A. Curtis) Niemelä et Kinnunen	+			
<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr.		+		
<i>Hapalopilus ochraceolateritius</i> (Bondartsev) Bondartsev et Singer	+			
<i>Lentinus substrictus</i> (Bolton) Zmitr. et Kovalenko			+	
<i>Loweomyces wynneae</i> (Berk. et Broome) Jülich	+			
<i>Picipes badius</i> (Pers.) Zmitr. et Kovalenko	+			
<i>Skeletocutis alutacea</i> (J. Lowe) Jean Keller	+			
<i>S. amorpha</i> (Fr.) Kotl. et Pouzar	+			
<i>S. carneogrisea</i> A. David	+			
<i>S. papyracea</i> A. David	+			
<i>Trametes gibbosa</i> (Pers.) Fr.			+	
<i>Tyromyces lacteus</i> (Fr.) Murrill	+			
<i>Trichaptum abietinum</i> (Dicks.) Ryvarden	+			
Семейство <i>Sparassidaceae</i>				
<i>Sparassis crispa</i> (Wulfen) Fr.			+	
<i>S. laminosa</i> Fr.			+	

Окончание таблицы

Таксон	Трофическая группа			
	Са-протрофы	Факультативные паразиты	Факультативные сапротрофы	Патогены
Порядок RUSSULALES. Семейство <i>Bondarzewiaceae</i>				
<i>Bondarzewia mesenterica</i> (Schaeff.) Kreisel				+
<i>Heterobasidion abietinum</i> Niemelä et Korhonen	+			
<i>H. annosum</i> (Fr.) Bref.			+	
<i>H. parviporum</i> Niemelä & Korhonen	+			
Семейство <i>Hericiaceae</i>				
<i>Hericium flagellum</i> (Scop.) Pers.	+			
<i>H. coralloides</i> (Scop.) Pers.		+		
Семейство <i>Peniophoraceae</i>				
<i>Gloiothele citrina</i> (Pers.) Ginns et G. W. Freeman	+			
<i>Amylocorticium subincarnatum</i> (Peck) Pouzar	+			
Семейство <i>Stereaceae</i>				
<i>Stereum hirsutum</i> (Willd.) Pers.			+	
Порядок THELEPHORALES. Семейство <i>Bankeraceae</i>				
<i>Hydnellum aurantiacum</i> (Batsch) P. Karst.	+			
<i>Phellodon melaleucus</i> (Sw. ex Fr.) P. Karst.	+			
Семейство <i>Thelephoraceae</i>				
<i>Thelephora umbrinospora</i> M. J. Larsen	+			
Класс DACRYMYCETES. Порядок DACRYMYCETALES. Семейство <i>Dacrymycetaceae</i>				
<i>Calocera cornea</i> (Batsch) Fr.	+			
<i>C. viscosa</i> (Pers.) Fr.	+			

Субстратная специализация ксилотрофных грибов определяет формационную принадлежность видов как результат длительной сопряженной эволюции растений и грибов.

Эндемичные виды для темнохвойной тайги прошли длительный период коэволюции и составляют ядро микобиоты, выявленной на древесине *Abies nordmanniana*. К ним относятся виды, встречающиеся только в составе микобиоты хвойных: *Amylocorticium subincarnatum*, *Crustoderma dryinum*, *Crustomyces subabruptus*, *Cystostereum murrayi*, *Hymenochaete cruenta*, *Onnia tomentosa*,

Phellinus hartigii, *Phlebia centrifuga*, *Piloderma bicolor*, *Resinicium bicolor*.

Список литературы:

1. Кухтырева Н.С., Лаишхия Ш.В., Мгеладзе К.Г. Природа Абхазии. Сухуми: Абгосиздат. 1961. 342 с.
2. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа// Под. Ред. В. П. Савич. М. — Л., Изд-во. АН СССР, 1953. 1106 с.
3. Бурова Л.Г. и др. Экология грибов макромицетов. — М.: Наука, 1986. 222 с.

АНАМОРФНЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ — НА СОРТОВЫХ РОЗАХ В РОЗАРИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Кориняк С.И., Миркина Е.В., Иванова А.Д., Соловьева В.К.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск
Средняя школа № 114 г. Минска им. Симона Боливара, Республика Беларусь

В деле озеленения и украшения палисадников, приусадебных участков, клумб, цветников, городских парков, скверов, ботанических садов важную роль имеет оценка фитосанитарного состояния посадок сортов роз, в частности, определение видового разнообразия грибов, вызывающих заболевания как вегетативных, так и генеративных органов. Среди заболеваний наиболее распространены пятнистости листьев, причиной возникновения которых в основном являются

анаморфные грибы и их микокомплексы. Анаморфные микромицеты, способны выступать как в качестве сапротрофов, так и проявлять фитопатогенные свойства, нарушая физиологические функции растения-хозяина, что ведет к ухудшению развития растения, а порой к его гибели. Поэтому определение видового состава вышеупомянутых микромицетов, разработка мер борьбы с ними и проведение защитных мероприятий имеют существенное значение, что позволит снизить степень

поражения, и распространенность болезней, свести к минимуму экономический ущерб и улучшить товарный вид роз.

Работы по сбору материала выполнялись в розарии Центрального ботанического сада НАН Беларуси (Лаборатория интродукции и селекции орнаментальных растений). Исследования по выявлению фитопатогенных микромицетов проводились в лаборатории микологии ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. Ф.В. Купревича» НАН Беларуси. При изучении видового состава микромицетов использованы общепринятые методы В.И. Билай [1]. Общий средний балл поражения растений рассчитывался по формуле:

$$P = (a + b \times 2 + c \times 3 + d \times 4) / N$$

Где P — средний балл заражения; N — общее число проанализированных растений; a — число растений, имеющих 1 балл заражения; b — число растений со 2-м баллом; c — число растений с 3-м баллом и d — число растений с 4-м баллом.

Названия и анаморфы нижеприведенных видов грибов приведены в соответствие с требованиями международной микологической глобальной базы данных — Index fungorum [7]. Далее приведен список выявленных видов фитопатогенных грибов, и их анаморф с указанием растения-хозяина, на котором данный микромицет был отмечен. В скобках представлены группы исследуемых сортов роз.

Alternaria chartarum Preus., Flora, Regensburg 34: no. 27 (1851). *Pleosporaceae* [3, 4, 6].

На листьях *Heidegruss* (Флорибунда), *Orange Rumba* (Флорибунда), *Pink Spray* (Полуплетистые), *Tamburin* (Флорибунда), *Vltava* (Плетистые крупноцветковые), *Крещатик* (Флорибунда), *Профессор Виктор Иванов* (Чайно-гибридные). На листьях и лепестках *Jacaranda* (Чайно-гибридные).

Alternaria tenuissima (Kunze) Wiltshire, Trans. Br. mycol. Soc. 18 (2): 157 (1933). *Pleosporaceae* [3,4,6].

На листьях *Abraham Darby* (Розы Остина), *Angelo* (Полуплетистые), *August cordes* (Полуплетистые), *Ave Maria* (Полуплетистые), *Cardinal de Richeliev* (Розы Остина), *Dortmund* (Розы кордесса), *Flamingo* (Чайно-гибридные), *Flammentaz* (Плетистые крупноцветковые), *Henry morse* (Флорибунда), *Higulight* (Флорибунда), *James Galway* (Розы Остина), *Prosperity* (Гибрид розы мускусной), *The Wedgwood rose* (Розы Остина), *Tornado* (Флорибунда), *Крымчанка* (Флорибунда), *Майор Гагарин* (Грандифлора), *Пламя востока* (Флорибунда), *Профессор Виктор Иванов* (Чайно-гибридные). На листьях и лепестках *Allotria* (Флорибунда), *Jacaranda* (Чайно-гибридные), *Paolsen roser* (Флорибунда), *Roter Stern* (Чайно-гибридные), *Sandra* (Чайно-гибридные), *Zalzburg* (Полуплетистые).

Aureobasidium pullulans (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud, Annals d'École National d'Agric. de Montpellier, Série 2 16 (1–4): 39 (1918) [1917]. *Sacotheciaceae* [4, 6].

На листьях *Cardinal de Richeliev* (Розы Остина), *Henry Morse* (Флорибунда), *Крымчанка* (Флорибунда), *Пламя востока* (Флорибунда). На листьях и лепестках *Paolsen roser* (Флорибунда).

Botrytis cinerea Pers., Syn. meth. fung. (Göttingen) 2: 690 (1801). *Sclerotiniaceae* [4, 5].

На лепестках *Jacaranda* (Чайно-гибридные).

Cladosporium herbarum (Pers.) Link, in Willdenow, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 8: 37 (1816) [1815]. *Cladosporiaceae* [3, 4, 6].

На листьях *Abraham Darby* (Розы Остина), *Angelo* (Полуплетистые), *August cordes* (Полуплетистые), *Ave Maria* (Полуплетистые), *Cardinal de Richeliev* (Розы Остина), *Charles Darwin* (Розы Остина), *Dortmund* (Розы кордесса), *Flamingo* (Чайно-гибридные), *Flammentaz* (Плетистые крупноцветковые), *Heidegruss* (Флорибунда), *Hermelia Casas* (Флорибунда), *Higulight* (Флорибунда), *James Galway* (Розы Остина), *Orange Rumba* (Флорибунда), *Pink Spray* (Полуплетистые), *Prosperity* (Гибрид розы мускусной), *Tamango* (Флорибунда), *The Wedgwood rose* (Розы Остина), *Tornado* (Флорибунда), *Triomphe de L Exposition* (Ремонтантные), *Vltava* (Плетистые крупноцветковые), *Крещатик* (Флорибунда), *Крымчанка* (Флорибунда), *Майор Гагарин* (Грандифлора), *Пламя востока* (Флорибунда), *Профессор Виктор Иванов* (Чайно-гибридные). На листьях и лепестках *Allotria* (Флорибунда), *Jacaranda* (Чайно-гибридные), *Paolsen roser* (Флорибунда), *Roter Stern* (Чайно-гибридные), *Sandra* (Чайно-гибридные), *Zalzburg* (Полуплетистые).

Embellisia chlamydospora (Hoes, G.W. Bruehl & C.G. Shaw) E.G. Simmons, Mycologia 63 (2): 384 (1971) [4, 6].

На листьях *August cordes* (Полуплетистые), *Higulight* (Флорибунда), *Крымчанка* (Флорибунда).

Marssonina rosae (Lib.) Died., Krypt. -Fl. Brandenburg (Leipzig) 9 (5): 830 (1915). *Dermateaceae* [2].

На листьях *Allotria* (Флорибунда), *Charles Darwin* (Розы Остина), *Flamingo* (Чайно-гибридные), *Zalzburg* (Полуплетистые), *Майор Гагарин* (Грандифлора).

Phyllosticta rosarum Pass., Erb. critt. Ital., Ser. 2, fasc.: no. 1092 (1881). *Elsinoaceae* [3].

На листьях *Zalzburg* (Полуплетистые), *Orange rumba* (Флорибунда).

Ramularia banksiana (All.) (Pass.) Sacc., Syll. fung., Ad-dit. I-IV (Abellini): 377 (1886). *Mycosphaerellaceae* [4].

На листьях *Allotria* (Флорибунда), *Angela* (Полуплетистые), *August cordes* (Полуплетистые), *Ave Maria* (Полуплетистые), *Charles Darwin* (Розы Остина), *Higulight* (Флорибунда), *James Galway* (Розы Остина), *Orange Rumba* (Флорибунда), *Prosperity* (Гибрид розы мускусной), *Tamango* (Флорибунда), *The Wedgwood rose* (Розы Остина), *Tamburin* (Флорибунда), *Triomphe de L'Exposition* (Ремонтантные), *Vltava* (Плетистые крупноцветковые), *Крещатик* (Флорибунда). На листьях и лепестках *Zalzburg* (Полуплетистые).

Sporidesmium cladosporii Corda, Icon. fung. (Prague) 1: 7 (1837). *Pleosporomycetidae* [3].

На листьях *Abraham Darby* (Розы Остина), *James Galway* (Розы Остина), *Pink Spray* (Полуплетистые), *Tamango* (Флорибунда), *The Wedgwood rose* (Розы Остина), *Zalzburg* (Полуплетистые). На листьях и лепестках *Allotria* (Флорибунда).

Stemphylium botryosum Wallr. Fl. crypt. Germ. (Nürnberg) 2: 300 (1833). *Pleosporaceae* [4].

На листьях *Ave Maria* (Полуплетистые), *Cardinal de Richeliev* (Розы Остина), *Dortmund* (Розы кордесса), *Flammentaz* (Плетистые крупноцветковые), *Henry morse* (Флорибунда), *Крещатик* (Флорибунда). На листьях и лепестках *Paolsen roser* (Флорибунда), *Roter Stern* (Чайно-гибридные), *Sandra* (Чайно-гибридные).

Таблица — Потери декоративности цветков роз

Сорт	Число кустов	Средний балл поражения	Потери декоративности %
<i>Allotria</i>	8	1,6	15–20
<i>Jacaranda</i>	4	2,3	20–25
<i>Paolsen roser</i>	5	2,2	20–25
<i>Roter Stern</i>	5	2,2	20–25
<i>Zalzburg</i>	7	1,7	15–20

В результате ботанико-микологических исследований в розарии Центрального ботанического сада НАН Беларуси установлен и проанализирован видовой состав микромицетов. На 34 сортах роз из 9 групп идентифицировано 11 видов анаморфных грибов из 10 родов: *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Botrytis Cladosporium*, *Embellisia*, *Marssonina*, *Phyllosticta*, *Ramularia*, *Sporidesmium*, *Stemphylium*.

При изучении болезней, развивающихся на протяжении всего периода вегетации, в розарии ЦБС НАН Беларуси в 2019 году проведены учеты усредненной поражённости. С явными признаками поражения цветков нами было отобрано 5 сортов роз. На основе изучения выбранных сортов составлена картина усредненного балла поражения и, соответственно потери декоративности цветков роз в процентах.

После проведенного исследования с общим числом кустов роз 29 установлено, что 8 кустов имели 1-й балл поражения, 10 кустов — 2-й балл, 7 кустов — 3-й балл заражения.

Из таблицы видно, что потери декоративности цветков составили примерно от 15 до 25 %. При уровне поражения от 1,6 до 1,7 балла потери составляют 15–20%. При уровне поражения от 2,2 до 2,3 баллов потери уже довольно ощутимы и составляют от 20 до 25%.

Колебания усредненного бала поражения и соответственно потерь декоративности объясняется относителем потерь визуальной оценки балла поражения. Приведенные данные не следует рассматривать как абсолютно объективные и применимые при любых ус-

ловиях, так как в разные годы на потерю декоративности оказывают существенное влияние экологические факторы. Тем не менее, полученные результаты дают общее представление о масштабах ущерба наносимого фитопатогенными грибами в розарии ЦБС НАН Беларуси.

Список литературы

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. — Киев: Наукова думка, 1982. — 552 с.
2. Василевский Каракулин. Паразитные несовершенные грибы. Меланкониальные. — М.-Л.: Академия наук СССР, 1950. — Т. 2. — 405 с.
3. Визначник грибів України. Несовершені гриби / С.Ф. Морочковский, [и др.]; под общ. ред. Д.К. Зерова. 1-е изд. — Київ: Наукова думка, 1971. — Т. 3. — 696 с.
4. Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. — Киев: Наукова думка, 1977. — Т. 2. — 299 с.
5. Флора спорных растений Казахстана. Несовершенные грибы. Монилиальные / С.Р. Шварцман [и др.]; под общ. ред. С.Р. Шварцмана. — Алма-Ата: Наука, 1975. — Т. VIII. — Ч. 2. — 520 с.
6. Ellis M.V. *Dematiaceous hyphomycetes*. 1-t ed. — Surrey: Kew, — 1971. — 608 p.
7. Kirk P.M. Index of fungi. The global fungal nomenclator [electronic resource]. — The CABI, 2003–2004. — <http://indexfungorum.org/> — Date of access: 27.09.2019.

СТРУКТУРА И АКТИВНОСТЬ СООБЩЕСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ В РАЗЛАГАЮЩЕЙСЯ ДРЕВЕСИНЕ

Максимович С.В.¹, Иванова А.Е.^{1,2}, Костина Н.В.¹, Евдокимов И.В.³, Кураков А.В.¹, Горленко М.В.¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова

³Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН

Древесный пул является вторым по объемам, после почв, наземным резервуаром длительного депонирования связанного углерода, азота и других биогенных элементов. При этом до четверти запасов углерода приходится на мертвую фитомассу. Объемы мертвой древесины в еловых лесах составляют 20–40 м³/га, а запасы депонируемого в виде крупных древесных остатков органического вещества оцениваются в пределах 19–34 т/га в зависимости от продуктивности сообщества. Важно иметь представление о скоростях разложения рас-

тительных остатков в таких экосистемах и о роли разных групп организмов в этом процессе, поскольку при этом образуются соединения минерального питания растений, обеспечиваются накопление и поддержание запасов органических веществ в лесных почвах. А также формируется один из основных потоков углерода в атмосферу, однако по сравнению с другими источниками эмиссии диоксида углерода значение разложения крупных древесных остатков — изучено слабо. Многочисленные данные накоплены о роли грибов-базидио-

мицетов в деструкции опада и древесных субстратов. Значительно меньше сведений о составе, разнообразии и биомассе микроскопических грибов и бактерий разных функциональных групп, активности микробиологических процессов в разлагающемся валеже.

Целью исследования было оценить изменение активности микробных процессов, метаболической активности, состава и численности сообществ культивируемых бактерий, и грибов на разных стадиях разложения растительных остатков в ельнике, в зоне южной тайги, на примере ЦЛГЗ.

Задачами исследования стали:

- Охарактеризовать изменение таксономического состава, структуры и численности КОЕ ряда функциональных групп микромицетов на разных стадиях разложения крупных древесных остатков и растительного опада в ельнике;
- Описать изменение численности и таксономического состава культивируемых бактерий разных функциональных групп на разных стадиях разложения древесины ели;
- Оценить изменение метаболической активности и функционального спектра сообществ бактериального и грибного пулов по спектру утилизируемых субстратов на разных стадиях разложения древесины ели;
- Определить активности выделения диоксида углерода микробным сообществом на разных стадиях разложения валежа ели;
- Сопоставить полученные результаты с данными об изменении метаболической активности микробного пула, на разных стадиях разложения.

Объектами исследования стали отобранные в ЦЛГЗ образцы валежа ели, для каждой из пяти стадий разложения по Стороженко. Также отбирали образец верхнего слоя почвы, подстилка и свежий опад.

Для выполнения поставленных задач использовались следующие методы.

Выделение культивируемых форм микроорганизмов проводили методом посева на селективные среды. Выделение разных трофических групп организмов: сапротрофных, сахаролитических и целлюлозолитических грибов, а также сапротрофных и азотфиксирующих бактерий. Идентификацию проводили по морфологическим и фенотипическим признакам с использованием современных определителей.

Для анализа функционального изменения метаболически активных сообществ бактерий и грибов использовали метод мультисубстратного тестирования (мст).

Активность выделения диоксида углерода, азотфиксации и денитрификации газохроматографически.

Результаты:

На разных стадиях валежа выявлено изменение численности и видового разнообразия разных проанализированных групп микроорганизмов:

Численность колониеобразующих единиц (КОЕ) сахаролитических мицелиальных грибов и дрожжей — выделены синей и пунктирной зеленой линией — была максимальна на 1–2 стадиях и, начиная с 3 стадии, снижалась до или даже ниже уровня почвенных значений. При этом разнообразие не изменялось на разных стадиях сукцессии и было сходно с почвенным.

Численность и видовое богатство целлюлозолитических микромицетов — отмечены серым — напротив, на ранних стадиях были невысокими. А на 4 и 5 стадиях возросли примерно в два раза.

Разнообразие грибов выделенных на среде Чапека и олиготрофных грибов в ходе сукцессии не изменялось, а численность КОЕ несколько возростала на последних стадиях сукцессии, достигая уровней содержания в почве.

Численность гетеротрофных бактерий, развивающихся на древесине, оказалась на порядок меньше, чем в почве. Численность азотфиксирующих бактерий не изменялась на разных стадиях разложения древесины, а численность сапротрофов увеличивалась, практически в пять раз.

Наиболее выраженные и динамичные изменения были зарегистрированы в структуре целлюлозолитических грибов, происходила последовательная смена состава — элиминация одних видов и появление других, так на первых этапах преобладали пенициллы, но на 3 и 4 стадиях их замещают типичные целлюлозолитики рода Триходерма. на 5ой снова возрастает обилие пенициллов. Однако в почвенном целлюлозолитическом комплексе преобладает Клоностахис, и много мукоровых грибов, развивающихся на продуктах разложения, но не на само целлюлозе.

В составе сапротрофного и олиготрофного комплекса преобладают пенициллы. Однако среди олиготрофов на 4 стадии также абсолютно доминируют триходермы — известные целлюлозолитики.

Среди сахаролитических грибов на разных стадиях разложения древесины ели состав изменялся не так кардинально, фиксировали изменение спектра доминирующих видов. Появление новых видов происходило на 3 и 4 стадии сукцессии.

Состав и структура сапротрофного и олиготрофного блоков грибов были более стабильны и более сходны с почвенным комплексом. Выраженные изменения в этих группах регистрировали на 4 стадии.

Для гетеротрофного бактериального комплекса значимые изменения структуры регистрировали, начиная с 3 стадии. На 4 и 5 стадиях состав полностью изменялся, а на 5 — даже приближался к почвенному.

Состав, и численность азотфиксаторов на разных стадиях разложения древесины оказался сходен, и при этом существенно отличался от почвенного.

Таким образом, при сравнении сообществ микроорганизмов, развивающихся на опаде, в подстилке, на древесине ели разной степени разложения и в почве были выявлены изменения таксономического состава, разнообразия, набора доминирующих видов разных эколого-трофических групп микроорганизмов, в первую очередь, грибов. В ряду опад — подстилка — почва происходит возрастание разнообразия комплекса грибов, уменьшение доли темноокрашенных грибов — обитателей филлопланы, рост целлюлозолитиков. На крупных древесных остатках активные изменения структуры разных групп организмов наблюдаются, начиная с 3 стадии, и наиболее выражены на четвертой.

При анализе методом МСТ метаболической активности бактерий установлено, что наиболее активно в разлагающемся валеже утилизировались сахара, затем полимерные соединения, аминокислоты, амины, ами-

ды, и менее всего — спирты и органические кислоты. Активность усвоения бактериями этих групп соединений постепенно возрастала по мере разложения валежа ели.

С помощью кластерного анализа проведено сравнение спектра утилизируемых бактериями соединений на разных стадиях разложения валежа ели. Показано отличие активности и спектра используемых соединений бактериями ранних стадий разложения валежа (1 и 2 стадии), промежуточных (3 и 4 стадии) и 5-й стадии разложения валежа. При этом спектр утилизируемых субстратов на 5 стадии существенно отличался от предыдущих стадий, и оказался более близок к почве.

Однако по интенсивности потребления субстратов бактерии 5 стадии разложения ели еще не достигали уровня суммарной активности в гумусовом горизонте почвы.

При исследовании методом МСТ метаболической активности грибов в ходе разложения древесины ели с 1ой по 3ю стадии установлено постепенное снижение интенсивности потребления сахаров, полимеров, спиртов и аминокислот, но наоборот, возрастание интенсивности потребления органических кислот. На 4ой стадии потребление сахаров, полимеров и азотсодержащих соединений (аминокислот, аминов и амидов) возрастало почти в 2 раза. На 5ой стадии потребление сахаров и азотсодержащих веществ снова несколько снижалось, потребление полимеров продолжало расти, потребление органических кислот сохранялось на уровне 3–4 стадий.

Следует отметить, что активность потребления субстратов грибами на всех стадиях разложения ели была ниже чем почвенным пулом.

Кластерный анализ показал сходство грибного пула первых 3 стадий сукцессии, изменение активности пула на 4–5 стадиях, и, в целом, существенное отличие грибов в валеже ели от почвы.

Анализ дыхательной активности выявил ее максимальный уровень на 3 и 4 стадиях разложения древесины. Особенно потенциального дыхания при внесении глюкозы. Это может быть связано с накоплением продуктов разложения целлюлозы, которое приводило к активизации метаболической активности бактериального пула на 3ей и грибного на 4ой стадии разложения ели. И, возможно, с активным развитием на этих ста-

диях ряда грибов, в первую очередь, целлюлозолитических видов, таких как Триходермы, доминирующей в составе разных групп, как показано выше.

Наименьшая активность азотфиксации и денитрификации выявлена на 1 стадии разложения древесины. Увеличение регистрировали на следующей — 2ой стадии. Далее, на 3–5-й стадиях активность была сопоставима с почвенным уровнем.

Выводы

1. Сравнение грибных сообществ на поверхности листьев березы и хвои ели и подстилке ельника с примесью березы показывает значительное, в несколько раз увеличение его видового богатства и за счет повышения в нем доли аскомицетов-целлюлозолитиков и мукоровых грибов-сахаролитиков.
2. Дана комплексная оценка изменения таксономического состава и числа колониеобразующих единиц микроскопических грибов и гетеротрофных бактерий на всех 5-ти стадиях разложения валежа ели. Показано снижение численности сахаролитических мицелиальных и дрожжевых грибов по мере разложения древесины и возрастание целлюлозолитиков. Установлены доминирующие виды и рода грибов и бактерий на разных стадиях деструкции валежа ели.
3. Охарактеризован спектр и активность усвоения 47 и 23 соединений различных классов бактериальными и грибными сообществами, соответственно, на разных стадиях разложения валежа ели.
4. Эмиссия CO₂ из валежа ели обыкновенной наиболее активно протекает на 3 стадии его разложения. Максимальная активность азотфиксации наблюдается на более ранней стадии II, денитрификации на последней 5 стадии и сходна с таковой в гумусовом горизонте дерново-подзолистой почвы. Биомасса в валеже растет по мере его разложения и наибольших значений достигает на 4 стадии его разложения.
5. Активность выделения CO₂ из валежа выше. Чем из образцов гумусового горизонта почвы, что указывает на большую доступность и меньшую устойчивость органического вещества в крупных древесных остатках на всех стадиях разложения, включая 5-ю.

ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СУХОВЕРШИННОСТИ ЯСЕНЯ *HYMENOSCYPHUS FRAXINEUS* BARAL Et al. НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

Пантелеев С.В.¹, Баранов О.Ю.¹, Звягинцев В.Б.², Ярук А.В.²

¹Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель

²Белорусский государственный технологический университет, Минск

Одной из основных причин усыхания ясеневых насаждений в Европе является развитие суховершинности — инфекционного заболевания, возбудителем которого выступает инвазивный аскомицет *Hymenoscyphus fraxineus* Baral et al. В странах Западной Европы развитие данной инвазии уже привело к сокращению площади ясеневых насажде-

ний на 40–60% [1]. В Беларуси с 2005 года площадь ясенников также сократилась более чем на 40%, а к насаждениям с нарушенной биологической устойчивостью относят 98% [2]. В связи с эпидемией в ряде стран ведется разработка методов сохранения и восстановления ясенников, повышения их толерантности к возбудителю инвазии, однако эффек-

тивные стратегии на сегодняшний день не разработаны [3].

Целью работы являлось изучение генетического разнообразия белорусской популяции инвазивного патогена *H. fraxineus* с использованием RAPD-анализа.

24 чистые культуры, морфологически диагностированные как *H. fraxineus* и выделенные из пораженных побегов ясеня обыкновенного и ясеня пенсильванского в насаждениях пяти областей республики (Минская, Могилевская, Брестская, Витебская, Гродненская) были генетически верифицированы секвенированием фрагмента рДНК, включающим внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1, ITS2).

Изучение внутривидовой изменчивости идентифицированных штаммов *H. fraxineus* основывалось на анализе 29 специфических ДНК-локусов, полученных в ходе RAPD-анализа с использованием пяти праймеров: UBC-268, primer6, UBC-536, Oligo 85 и OPA-09. На основании расчета показателей генетической дистанции Неи (D_N) было установлено, что в исследованной выборке *H. fraxineus* отмечается высокий уровень внутривидового генетического разнообразия. Уровень различий между штаммами составлял 7–47% локусов и только два штамма были идентичными. Полученные данные показали отсутствие строгой географической приуроченности штаммов и наличие на территории страны множества микропопуляций патогена. Данное явление указывает на проникновение на территорию страны, по всей вероятности, многократной инвазии

спектра изолятов. Поддержанию выявленного уровня внутривидового разнообразия возбудителя в популяции возможно способствует низкая конкуренция в силу сходной вирулентности штаммов и доступности кормовой базы. В исследованной выборке также отмечалось явление гомоплазий — вторичных гомологий, не унаследованных от общего предка и сближающих дивергировавшие организмы в ходе филогенеза (параллельная эволюция). Данное явление объясняется общей направленностью развития популяции на определенной территории и может являться следствием адаптации к сходным условиям обитания.

Список литературы

1. Coker T.L.R., Rozsypalek J., Edwards A., Harwood T.P., Butfoy L., Buggs R.J.A. Estimating mortality rates of European ash (*Fraxinus excelsior*) under the ash dieback (*Hymenoscyphus fraxineus*) epidemic // *Plants People Planet*. 2019. Vol. 1. P. 48–58.
2. Общая характеристика лесопатологической ситуации в лесном фонде Республики Беларусь. Ясеньевые насаждения. URL: <http://www.bellesozaschita.by/front/ru/index?id=153>. (дата обращения 05.01.2020).
3. Sonstebo J. H., Vivian-Smith A., Adamson K., Drenkhan R., Solheim H., Hietala A. Genome-wide population diversity in *Hymenoscyphus fraxineus* points to an eastern Russian origin of European Ash dieback. URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/154492v1/> (дата обращения: 01.02.2020).

АФИЛЛОФОРОВЫЕ ГРИБЫ ПРОИЗВОДНЫХ ЛЕСОВ РАЗНЫХ ТИПАХ ЛАНДШАФТА (РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ)

Руоколайнен А.В.

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск

Группа афиллофоровых грибов (преимущественно дереворазрушающих), как составная часть гетеротрофного блока, играет существенную роль в функционировании лесных экосистем, участвует в распаде и ресинтезе органических веществ, прежде всего древесины.

Исследования афиллофоровых грибов в Республике Карелия начаты во второй половине XIX века. Более планомерное изучение проводится с 80-х–90-х годов XX столетия. К настоящему времени в республике выявлено 576 видов афиллофоровых грибов (Крутов и др. 2014; Руоколайнен, Коткова, 2018, 2019).

Попытка сравнить микобиоту коренных и производных лесов республики была предпринята. Сравнительный анализ показал существенные различия в видовом и таксономическом разнообразии микобиот коренных и производных лесов (ПЛ), а также в наличии индикаторных видов для высоковозрастных и коренных лесов (Крутов и др., 2013; Предтеченская, Руоколайнен, 2015). Детальные исследования на ландшафтной основе в Карелии и на сопредельных территориях ранее не проводились.

В 2017–2019 гг. были проведены исследования афиллофоровых грибов в трех типах ландшафта: лед-

никовом холмисто-грядовом среднезаболоченном с преобладанием еловых местообитаний (ледниковый), денудационно-тектоническом грядовом среднезаболоченный с преобладанием сосновых местообитаний (сельговый) и водно-ледниковом холмисто-грядовом среднезаболоченном с преобладанием сосновых местообитаний (водно-ледниковый).

В настоящее время в исследованных типах ландшафта выявлено 155 видов афиллофоровых грибов (аско- и базидиомицетов), что составляет менее 30% (26,7) от общего числа видов грибов данной группы, выявленных в Республике Карелия (576 видов). Самые многочисленные роды *Phellinus* (12 видов), *Tomentella* (9), *Huiphodontia* (6), *Polyporus* (5), *Botryobasidium*, *Phanerochaete*, *Trametes*, *Trichaptum* (по 4).

Большинство видов грибов, выявленных в ПЛ, являются сапротрофами. Факультативных сапротрофов и патогенов, которые развиваются на живых стволах и вызывают стволовые и корневые гнили, немного. К ним относятся *Inonotus obliquus*, *Oxyporus populinus*, *Phellinus alni*, *P. conchatus*, *P. nigricans*, *P. pini*, *P. populicola*, *P. tremulae*.

Таблица — Видовой состав афиллофоровых грибов в производных лесах в разных типах ландшафта

Характеристика	Всего	Тип ландшафта		
		ледниковый	сельговый	водно-ледниковый
Количество видов	154	87	94	68
Количество родов	83	55	59	43
Индикаторные, специализированные виды	8	2	3	7
В Красной книге РК	3	1	3	2
На березе	36	16	22	21
На ели	1	1	–	–
На иве	18	7	7	6
На ольхе	5	3	5	1
На осине	48	22	29	7
На можжевельнике	16	2	14	4
На рябине	19	16	4	–
На сосне	41	10	11	33
На черемухе	7	7	4	1
На почве	8	3	6	1

В ПЛ, как и в целом в региональной микобиоте, преобладают мезофилы, составляя более 50 % от общего числа выявленных видов. Ксерофилы и гигрофилы составляют примерно равные доли. В ПЛ доля гигрофилов снижена по сравнению с региональной микобиотой. Такое распределение видов по экологическим группам объясняется особенностями типологического состава и возраста лесов.

На древесине хвойных пород отмечено 49 видов, на древесине лиственных — 94, не проявляют избирательности к определенным породам (растут и на лиственных, и на хвойных) 15 видов. Большая часть видов отмечены на основных лесобразующих породах: осине (*Populus tremula*) — 49 видов, сосне (*Pinus sylvestris*) — 41, березе (*Betula* spp.) — 36. На рябине (*Sorbus aucuparia*) зарегистрировано — 19, иве (*Salix* spp.) — 18, можжевельнике (*Juniperus communis*) — 16, черемухе (*Prunus padus*) — 7, ольхе (*Alnus incana*) — 5. Видовое разнообразие ПЛ на профилях в разных типах ландшафта сильно обеднено из-за почти полного отсутствия валежа хвойных пород, особенно ели (табл.).

Напочвенные виды афиллофоровых грибов наиболее характерны для высоковозрастных сосновых сообществ с минимальной антропогенной нагрузкой не только на древесный, но и травяно-кустарничковый ярус и подстилку. В видовом составе ПЛ эта группа также представлена ограниченным числом видов (8 видов).

В ПЛ были найдены 15 индикаторных и специализированных видов высоко- (старо)возрастных лесов (Выявление..., 2009). В биотопах ПЛ с участием осины приурочены: *Gloiodon strigosus*, *Polyporus badius*, *P. pseudobetulinus*, *Punctularia strigosozonata*. В биотопах с минимальной антропогенной нагрузкой: *Ceriporiopsis pannocincta*, *Multiclavula mucida*, *Phelinus viticola*, *Skelletocutis odora*, *Toментella crinalis*. В биотопах сосновых лесов: *Chaetodermella luna*, *Gloeoporus taxicola*, *Phellinus pini*, *Pseudomerulius aureus*.

В Красную книгу (2007) внесены 4 вида — *Gloiodon strigosus* (Аркойла, Вендьюры), *Polyporus pseudobetulinus*, *Punctularia strigosozonata*, *Toментella crinalis*.

Видовое богатство афиллофоровых грибов в каждом типе ландшафта определяет несколько факторов — возраст, породный состав древостоя, наличие валежа хвойных и лиственных пород в разной степени разложения и присутствие разных типов местообитаний.

Список литературы

1. Крутов В.И., Шубин В.И., Предтеченская О.О. и соавт. Грибы и насекомые — консорты лесобразующих древесных пород Карелии. Петрозаводск, 2014. 216 с.
2. Руоколайнен А. В., Коткова В. М. Новые сведения об афиллофоровых грибах (*Basidiomycota*) национального парка «Водлозерский» // Труды КарНЦ РАН. Сер. Биogeография. 2018. № 8. С. 126–131.
3. Руоколайнен А. В., Коткова В. М. Афиллофоровые грибы (*Basidiomycota*) островов северной части Ладожского озера (Республика Карелия). Труды КарНЦ РАН. Сер. Биogeография. 2019. №8. С. 17–29.
4. Крутов В.И., Руоколайнен А.В., Предтеченская О.О., Шубин В.И., Фадеева М.А. Микобиота коренных и производных лесов Восточной Финляндии: видовое разнообразие, субстратно-биотопическая приуроченность и функциональное значение // Биологическое разнообразие лесных экосистем / Отв. ред. А.С. Исаев. М.: Наука, 2013. С. 329–372.
5. Предтеченская О.О., Руоколайнен А.В. Микобиота коренных и производных лесов Республики Карелия // Проблемы лесной фитопатологии и микологии: Матер. 9-ой Междунар. конф. (Минск, 19–24 октября 2015 г.). Минск — Москва — Петрозаводск. 2015. С. 168–171.
6. Выявление и обследование биологически ценных лесов на Северо-Западе Европейской части России. Т. Пособие по определению видов, используемых при обследовании на уровне выделов. 2009. СПб, 258 с.
7. Красная книга Республики Карелия. Петрозаводск: Карелия, 2007. 368 с.

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В МНОГОЛЕТНИХ ЗЕЛЕНЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ИЗ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ

Серая Л.Г., Ларина Г.Е., Калембет И.Н., Полякова Н.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, р.п. Большие Вяземы

В процессе роста и развития на растение воздействуют абиотические и биотические факторы окружающей среды, которые способны оказывать неблагоприятное влияние (стресс) на растение и могут служить причиной возникновения различных заболеваний как инфекционного, так и неинфекционного характера. Визуальными признаками проявления стресса у древесных растений являются потеря декоративности, снижение жизнеспособности, изменении цвета хвои, неравномерность отрастания и пр. В качестве инициаторов инфекционного процесса выступают фитопатогенные грибы, которые поражают надземную часть и корневую систему древесных растений.

Целью нашего исследования было определение фитосанитарного состояния посадок пихты сибирской на объектах озеленения в условиях Московского региона.

Методы исследования. В двух локациях в многолетних посадках пихты сибирской при проведении рекогносцировочных обследований по причине потери декоративности отдельных деревьев (усыхание хвои в течение 2019 года) использовали шкалу оценки категории состояния древесных растений [1]. Для определения причин поражения деревьев были отобраны образцы хвои, корней и почвы для инструментальных анализов. Микологические исследования проведены в лабораторных условиях на базе отдела патологии декоративных и садовых культур ФГБНУ ВНИИ фитопатологии. Выделение микромицетов проведено традиционными методами микробиологии и фитопатологии (посев на твердые агаризованные среды, влажная камера, посев в каплю) [2–4]. Видовую принадлежность выделенных изолятов устанавливали на основании культурально-морфологических признаков по определителям для соответствующих таксономических групп [5–7]. Терминология приведена в соответствии с Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>). Физико-химические исследования почвы сделаны по ГОСТ 28168–89, ГОСТ 17.4.3.01–83, ГОСТ 29269–91. В лабораторных условиях в отобранных образцах почвы определены физико-химические свойства с помощью анализатора серии АМТ 03, сертификация №705869; прибора «Эксперт-001» [8].

Результаты. Участок (локация) 1 представлен парковым массивом, где растения пихты сибирской образуют живописные группы с березами и соснами естественного происхождения. В посадках пихты отмечены растения 1–3-ей категории состояния.

В фоновой почве под естественной растительностью выделены грибы родов *Aureobasidium* (сапрофиты, широко распространены в окружающей среде), *Clonostachys* (распространены в почвах, растительных остатках — корнях и опаде, паразитируют на других грибах), *Humicola* (облигатные сапротрофы, их рост связан с мертвыми растительными остатками или почвенным гумусом, не способны развиваться на растениях).

В анализируемых образцах почвы из корневой зоны пихты сибирской показатель рН равен 7,5–7,9 и на участках с фоновой почвой рН=7,4–7,8, что соответствует щелочной среде и превышает оптимальную кислотность почвы для пихты сибирской равную 4,5–5,6. Пихта сибирская требовательна к питанию, но на обследуемом участке почва отличается дефицитом по азоту, высоким содержанием магния и засолением водорастворимыми солями, в том числе, натрием. Процесс засоления почвы в корневой зоне растений ограничивает поступление влаги в корни. Определено повышенное содержание аммиачного азота в корневой зоне пихты, по сравнению с почвой, взятой из-под березы и сосны естественного происхождения. Это характеризует потери азота, разрушение структурности почвы (диспергация глины, глыбистость), уменьшение капиллярной влаги (иссушение), потери гумуса, обилие патогенов.

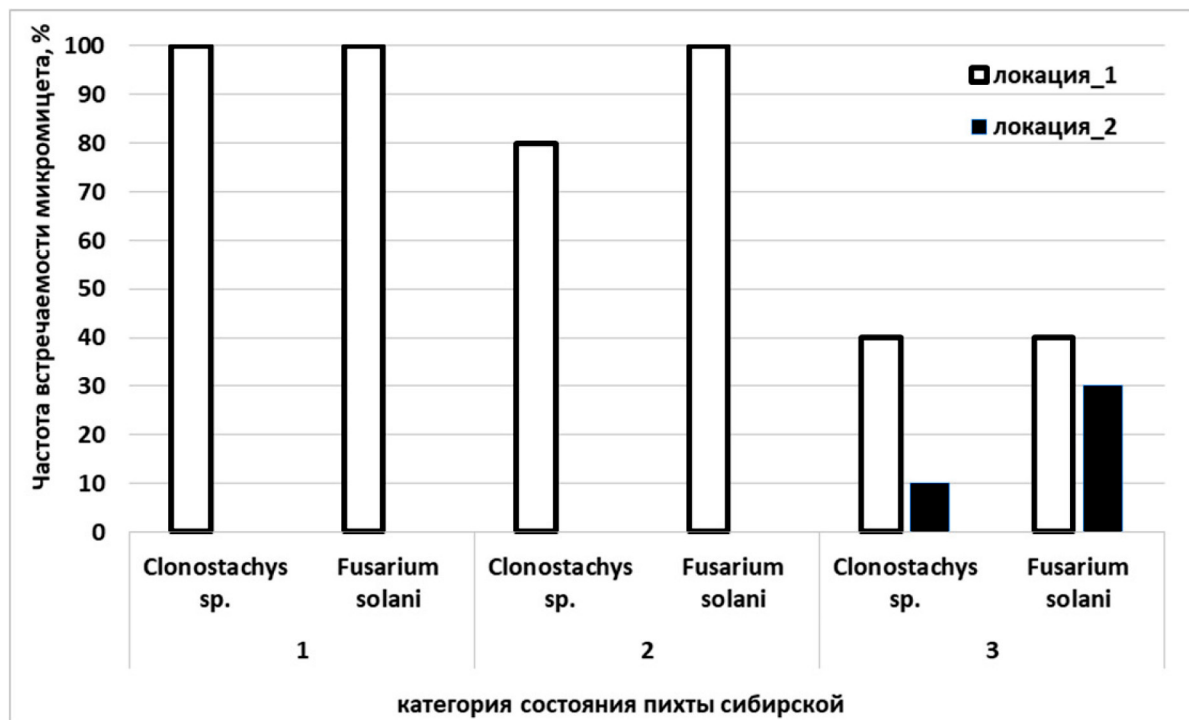
Выделенный комплекс из локации 1 (пихта сибирская) включал грибы следующих родов:

- корни (ризосфера) — *Acremonium*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Humicola*, *Phoma*, *Trichoderma*;
- элементы растения (побеги) — *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Bothrodiscus*, *Colletotrichum*, *Cucurbitaria*, *Diplodia*, *Macrophoma*, *Mucor*, *Phoma*, *Rhizosphaera*, *Sclerophoma*;
- элементы растения (хвоя) — *Alternaria*, *Pestalotia*;
- почва из корневой зоны пихты (искусственная растительность) — *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Humicola*, *Trichoderma*, *Verticillium*;
- фоновая почва участка (ненарушенная, под естественной растительностью — сосна, береза) — *Aureobasidium*, *Clonostachys*, *Humicola*.

В целом комплекс почвенных грибов в локации 1 характеризует неудовлетворительные условия — слабая аэрируемость, бесструктурность, переуплотненность верхних горизонтов, деструкция органического вещества, и, как следствие, увеличивается рост фитопатогенных грибов в почве. Ситуация в корневой зоне пихты осложнена присутствием грибов рода *Phoma* (возбудитель фомоза, приводит к усыханию побегов, образованию некротических пятен в лубе, отмиранию коры выше корневой шейки) и *Fusarium* (возбудитель фузариоза, приводит к развитию корневых гнилей). Отметим, что в почве из корневой зоны пихты определены, в том числе, фитопатогенные грибы родов *Acremonium* и *Verticillium*, а в ризосфере (корни пихты) — *Acremonium*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Humicola*, *Phoma*.

Ослабленные растения менее устойчивы к аэрогенным болезням. В теплый период происходит активное заселение побегов и хвои, из образцов которых выделены, в том числе, фитопатогенные грибы из родов *Alternaria*, *Diplodia* (образование язв на стволе и ветвях, усыхание побегов, хвои, увядание почек), *Macrophoma* (усыхание побегов), *Pestalotia* (усыхание побегов, хвои),

Рисунок 1 — Обилие фитопатогенных грибов в почве растений пихты сибирской 1–3-ей категории состояния



Sclerophoma (склерофомоз, поражение и гибель побегов и хвои), *Cucurbitaria* (поражение почек хвойных) и т. д.

Локация 2 — это аллеи посадки, где растения пихты сибирской образуют разделительные полосы между газонами и строениями, отсутствует растительность естественного происхождения. В посадках пихты отмечены растения 1-ой категории состояния, 2-й (пеньки после обрезки ветвей, заглубление корневой шейки, раневой рак) и 3-й (заросшая морозобоинная трещина, частичное усыхание вершины, побурение хвои, заселение стволовыми вредителями).

В анализируемых образцах почвы из локации 2 показатель рНвод равен 6,8–7,0, что соответствует нейтральной среде, но в данной ситуации значение рН критично и может быть фактором, ослабляющим хвойное растение. По обеспеченности основными макроэлементами почва характеризуется по азоту — низким содержанием, фосфору и калию — очень высоким. В корневой зоне пихты определен дисбаланс по питательным элементам, что влияет на нарушения в функциональности корневой системы. Ослабленное растение отличается низким иммунитетом против возбудителей болезней и вредителей.

Выделенный грибной комплекс растения 3-й категории отличался низким биоразнообразием с доминированием (ЧВ выше 50%) грибов родов *Fusarium*, *Clonostachys* (рисунок 1). С учетом места отбора были определены грибы следующих родов:

- почва — *Clonostachys*, *Colletotrichum*, *Cunninghamella*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*;
- побеги — *Alternaria*, *Clonostachys*, *Chaetomium*;
- корни — *Alternaria*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Trichoderma*.

В почве из корневой зоны пихты и газона выделены грибы рода *Colletotrichum* (возбудитель антракноза,

активно развивается при теплой и влажной погоде, визуальные признаки характеризуются бурыми пятнами на побегах и ветвях пораженных растений). На побегах пихты идентифицирован гриб рода *Chaetomium*, который развивается на мертвой древесине и прочих растительных остатках, торфогрунте, а также способен активно разрушать деревянные конструкции.

Заключение. В многолетних насаждениях из пихты сибирской выделен комплекс грибов, который отличается низким биоразнообразием, но в то же время обильным присутствием фитопатогенов и плесневых грибов с ЧВ выше 40%. На хвое и побегах выделены фитопатогенные грибы из родов *Alternaria*, *Diplodia*, *Macrophoma*, *Pestalotia*, *Sclerophoma*, *Cucurbitaria*. Показано, что в условиях стресса (дисбаланс по питательным элементам и пр.) растения пихты теряют устойчивость к поражению болезнями, что ухудшает их состояние, а в корневой зоне возникают «критические» нарушения или «микологические эффекты» [9]. В результате при ухудшении категории состояния пихты сибирской от 1-й до 3-й наблюдали постепенное снижение обилия грибов рода *Clonostachys* от 100% до 30% и резкое убывание грибов рода *Fusarium* — от 100% до 10 (30)% в почве корневой зоны.

Список литературы

1. Постановление Правительства РФ от 20 мая 2017 г. № 607 «О Правилах санитарной безопасности в лесах» (Электронный формат: <https://base.garant.ru/71685642/>. Дата обращения 28.02.2020 г.).
2. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. — М.: Дрофа, 2004. — 256 с.
3. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 224 с.

4. Красноженов Е.П. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии. — Томск: СибГМУ, 2003. — 260 с.
5. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно — патогенных грибов. М.: Мир. 2001. 468 с.
6. Ainsworth G. C., Kirk P. M., Bisby G. R. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi / Ed. by P. M. Kirk, P. F. Cannon, G. David, J. A. Stalpers. CAB International, 2001. 655 p.
7. Seifert K., Morgan-Jones G., Gams W., Kendrick B. The genera of Hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre/ Utrecht, The Netherlands. 2011. 997 p.
8. Агрохимия. Учебник/В.Г. Минеев, В.Г. Сычев, Г.П. Гамзиков и др.; под ред. В.Г. Минеева. — М.: Изд-во ВНИИА им. Д.Н. Прянишникова, 2017. — 854 с.
9. Ларина Г.Е., Жуков Ф.Ф., Михалева С.Н., Бондарева Е.В., Калембет И.Н., Картабаева Б.Б., Серая Л.Г. Микробные ценозы в ризосфере древесных растений молодых садово-парковых комплексов // Совет ботанических садов стран СНГ при международной ассоциации академий наук. Информационный бюллетень. Выпуск 10 (33). М.: ООО «Научтехлитиздат», 2018, С. 50–56

ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ПОРАЖЕНИИ ПОБЕГОВ СОСНЫ КРЫМСКОЙ В НАСАЖДЕНИЯХ РЕСПУБЛИКИ КРЫМ

Шишкина А.А., Шишкина А.А.
«Рослесозащита», Пушкино

В последние годы в ряде лесничеств Республики Крым наблюдается повсеместное патологическое усыхание побегов сосны крымской *Pinus pallasiana* D. Don (= *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe). Признаки заболевания зарегистрированы в насаждениях Бахчисарайского, Симферопольского, Старокрымского и Раздольненского лесничеств, преимущественно в лесных культурах третьего класса возраста. У больных растений отмечается усыхание и обильное засмоление побегов текущего года. Нередко заболевание распространяется на побеги прошлых лет. Степень поражения крон деревьев варьирует и составляет от 5 до 50%. В связи с тем, что сосна крымская является ценной породой, выполняющей средообразующие, почвозащитные и санитарно-гигиенические функции, ухудшение ее фитопатологического состояния не может не привлекать внимания специалистов службы защиты леса.

С целью идентификации возбудителей грибных болезней и определения их роли в поражении сосновых древостоев в октябре 2018 г. и в апреле 2019 г. сотрудниками ФБУ «Рослесозащита» и Филиала ФБУ «Рослесозащита» — «Центр защиты леса Республики Крым» были отобраны образцы пораженных побегов и хвои. Фитопатологический анализ проводили микологическим, микроскопическим и генетическим методами. Степень встречаемости видов дендротрофных грибов в образцах оценивали по шкале: массовая (вид отмечен на преобладающем количестве побегов в образцах, побеги или хвоя сплошь покрыты спорониями); обычная (вид отмечен на многих побегах, споронии расположены локально); редкая (вид отмечен в образцах несколько раз); единичная (вид отмечен один раз). Генетический анализ проводили сотрудники лаборатории мониторинга состояния лесных генетических ресурсов ФБУ «Рослесозащита». Анализ выделенной

Таблица — Результаты фитопатологического анализа пораженных побегов и хвои сосны крымской

Вид	Субстрат	Вызываемое заболевание	Встречаемость
<i>Alternaria</i> sp.	Усохшие побеги	– *	Единичная
<i>Cyclaneusma minus</i> (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter	Усыхающая и усохшая хвоя	Пожелтение хвои	Редкая
<i>Dothistroma septospora</i> (Dorogin) M. Morelet	Зеленая или частично побуревшая хвоя на живых побегах	Дотистромоз, или красная пятнистость хвои	Обычная
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.	Усохшие побеги	– *	Единичная
<i>Neocatenulostroma germanicum</i> (Crous & U. Braun) Quaedvl. & Crous.	Зеленая и побуревшая хвоя	Побурение хвои	Обычная
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko & B. Sutton	Усыхающие и усохшие побеги, почки, побуревшая хвоя	Диплодиоз: усыхание побегов, побурение хвои, отмирание почек	Обычная

* Примечание: в рассмотренных образцах виды выявлены только на мертвых тканях

ДНК осуществляли методом полимеразной цепной реакции с универсальными и видоспецифическими праймерами и методом прямого сиквенсового определения нуклеотидных последовательностей на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500.

По результатам фитопатологического анализа образцов обнаружено шесть видов дендротрофных грибов (таблица), из них четыре вида способны вызывать усыхание побегов и хвои.

Из выявленных видов на усыхающих побегах преобладает несовершенный гриб *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton, возбудитель диплоидиоза, или сферопсисового некроза стволов и ветвей, побурения хвои и отмирания почек. *S. sapinea* встречается во многих странах Европы, Азии, Северной и Южной Америки, в Африке, Австралии, Новой Зеландии и известен тем, что способен вызывать массовое поражение сосновых древостоев [1, 2]. В 2009 г. обширное распространение диплоидиоза отмечалось в молодых культурах сосны обыкновенной в Беларуси, а в 2016 г. — в Центральной России [3, 4]. При анализе образцов сосны крымской спороношения *S. sapinea* отмечены на побегах, почках и хвое. Ранее, в 2016 г., этот вид уже выявлялся на образцах побуревшей хвои (по результатам ДНК-анализа, проведенного сотрудниками ФБУ «Рослесозащита»).

Наряду с *S. sapinea* на хвое обнаружен сумчатый гриб *Cyclaneusma minus* (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, вызывающий пожелтение хвои. Это заболевание является весьма вредоносным, приводит к усыханию и опадению хвои, ослаблению молодых сосен. Болезнь распространена в Северной Америке, во многих странах Европы и Азии и поражает более 20 видов хвойных пород. *C. minus* отмечен в Казахстане и на Украине. В России патоген зарегистрирован на Дальнем Востоке, в Сибири и некоторых регионах европейской части страны (Белгородской, Самарской, Московской и Ярославской областях) [5]. Встречаемость *C. minus* в исследованных образцах сравнительно низкая, однако этот гриб является потенциально опасным, особенно для ослабленных сосен.

Наряду с пожелтением хвои выявлено другое заболевание, представляющее серьезную угрозу состоянию сосны, — дотистромоз, или красная пятнистость хвои. Эта болезнь широко распространена на разных видах сосен в странах Северной и Южной Америки, Африки, Азии и Европы. На территории бывшего СССР дотистромоз отмечался в Грузии, Казахстане, Эстонии, Латвии, Литве и на Украине. В России заболевание обнаружено в Московской, Тульской, Ярославской и Ленинградской областях, на Кавказе и в Крыму, в Республике Марий Эл, Красноярском крае, на Алтае [6]. Серьезная эпифитотия красной пятнистости сосны крымской наблюдалась в Ростовской области в 2007 г. [7].

Известно, что дотистромоз может быть вызван двумя близкородственными видами грибов: *Dothistroma septosporum* (Dorog.) Morelet и *D. pini* Hulbary [8]. При микроскопировании спороношений нами идентифицирован вид *D. septosporum*. Результаты диагностики подтверждены в ходе ДНК-анализа. В рассмотренных образцах массовые спороношения *D. septosporum* выявлены на хвое из Раздольненского лесничества. В образцах из других лесничеств встречаемость этого гриба бо-

лее низкая. Дотистромоз — циклическое заболевание, развитие которого связано с погодными условиями [9]. Распространение инфекции происходит при длительных периодах с высокой влажностью и умеренными летними температурами, а также при обилии теплых дождей [5].

В ходе проведения генетического анализа на хвое был идентифицирован гриб *Neocatenulostroma germanicum* (Crous & U. Braun) Quaedvl. & Crous. Согласно литературным данным, этот вид часто заселяет хвою совместно с грибами рода *Dothistroma* sp. и вызывает ее побурение [10]. Патогенность *N. germanicum* была подтверждена в опытах по искусственному заражению. Гриб зарегистрирован на сосне горной и обыкновенной в Литве и на сосне крымской на юге Украины [10]. В отечественной литературе сведения о поражении древесных растений *N. germanicum* отсутствуют, в связи с чем требуется проведение дополнительных исследований его роли в ослаблении сосны.

Таким образом, в поражении побегов и хвои сосны крымской участвует комплекс дендротрофных грибов, обладающих патогенными свойствами. Преобладающими по встречаемости и наиболее опасными из обнаруженных видов грибов являются *Sphaeropsis sapinea* и *Dothistroma septosporum*, известными способностью вызывать массовое поражение сосны. Распространение грибов-возбудителей болезней свидетельствует об общем фоновом ослаблении древостоев, вызванном, наиболее вероятно, неблагоприятными абиотическими факторами. Необходимо детальное исследование происходящих негативных процессов в насаждениях сосны крымской и оперативная разработка защитных мероприятий против выявленных видов грибов с учетом их биологических и экологических особенностей.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ФБУ «Рослесозащита» и Филиала ФБУ «Рослесозащита» — «Центр защиты леса Республики Крым» за сбор образцов и помощь при проведении исследования.

Список литературы

- Peterson, G.W. Diplodia Blight of Pines / Forest Insect & Disease Leaflet 161. — U.S. Dep. of Agriculture, Forest Service. — Lincoln, 1981. — 6 p.
- Sinclair W.A. et al. Diseases of trees and shrubs / Ithaca and London: Comstock publishing associates, a division of Cornell University press, 1993. — 660 p.
- Ярмолович, В.А. Инфекционное усыхание побегов *Pinus sylvestris* L. в насаждениях Беларуси / В.А. Ярмолович, Н.О. Азовская // Грибные сообщества лесных экосистем. — Т. 4. — М.; Петрозаводск: КНЦ РАН, 2014. — С. 133–143.
- Шишкина, А.А. Инфекционное усыхание побегов сосны в Центральной России / А.А. Шишкина, С.Э. Некляев, В.А. Рябинков, Е.А. Якушкин // Совет ботанических садов стран СНГ при международной ассоциации академий наук. Информационный бюллетень. — Выпуск 10 (33). — М.: ООО «Научтехлитиздат», 2018. — С. 59–65.
- Жуков, А.М. Опасные малоизученные болезни хвойных пород в лесах России: изд. 2-е, испр. и доп.

- / А.М. Жуков, Ю.И. Гниненко, П.Д. Жуков. — Пушкино: ВНИИЛМ, 2013. — 128 с.
6. Мусолин, Д.Л. Дотистромоз хвойных в России и сопредельных странах / Д.Л. Мусолин, А.В. Селиховкин, Т.С. Булгаков // Леса России: матер. научно-технической конф. — СПб.: СПбГЛТУ, 2016. — С. 46–49.
 7. Соколова, Э.С. Дотистромоз — малоизвестная болезнь хвои сосны крымской в Ростовской области / Э.С. Соколова, Л.А. Фомина // Лес. х-во, 2007.— 3. — С. 45–46.
 8. Barnes, I. et al. Neotypification of *Dothistroma septosporum* and epitypification of *D. pini*, causal agents of Dothistroma needle blight of pine. — For. Pathology, 2016, 46. — P. 388–407.
 9. Woods, A. J. et al. Dothistroma needle blight, weather and possible climatic triggers for the disease's recent emergence. For. Pathology, 2016, 46, — P. 443–452.
 10. Markovskaja, S. et al. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens. For. Pathology, 2016. 46 — P. 522–533.

ПРОЯВЛЕНИЕ СОПРЯЖЕННОГО УВЯДАНИЯ ЛИСТВЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ (СУЛДР) В МОСКВЕ В 2019 ГОДУ

Смирнова О.Г., Довгань Е.Д., Михина М.С., Смирнов А.Н.

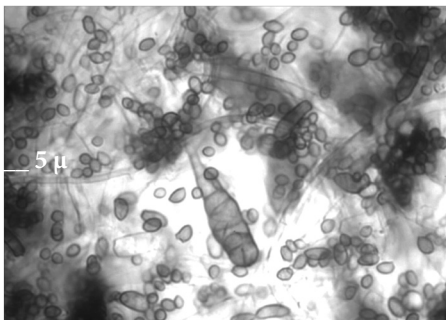
Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва.

В 2019 г. было описано сопряженное увядание листвы древесных растений (СУЛДР) [1]. Оно проявлялось в виде некротизации листвы городских древостоев с последующим увяданием на фоне поражения стволовыми болезнями или влияния факторов урбанизации. Крупномерные посадки плохо приживались или не приживались вовсе. Многие деревья приходилось заменять. Старые посадки

Рисунок 1— Проявление СУЛДР на различных крупномерных посадках на территории ВДНХ, июнь, 2019 г.



Рисунок 2 — Конидии *Alternaria* и *Cladosporium*. Липа, Китай-город



городских деревьев также были подвержены этой проблеме, распространяющейся на многие сферы города [2].

Цель настоящего исследования — проверить сохранится ли этот тренд в 2019 г. на посадках, имеющих большое значение для озеленения Москвы.

В результате проведенных обследований было установлено, что проблема сохранилась и в 2019 г. Часто симптомы СУЛДР находили на Садовом кольце и на территориях ВДНХ (рис. 1).

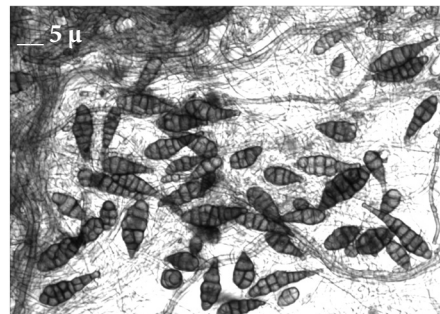
На неразвивающихся побегах древесных растений находили конидии грибов родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Aspergillus* и других анаморфных родов, обнаруженных в предшествующих исследованиях (рис. 2).

Очень важно, что на хвойных породах при некоторой специфике массово обнаруживали идентичные симптомы СУЛДР при сходном распределении родов фитопатогенных грибов (рис. 3).

Характерно, что во многих случаях наблюдали преобладание (до полного доминирования) конидий грибов рода *Alternaria*.

Таким образом, в проведенном исследовании подтверждены тренды предшествующих лет. СУЛДР остается опасной проблемой посадок деревьев в современном городском озеленении, причем эта проблема в центре Москвы носит универсальный характер [2, 3].

Рисунок 3 — Конидии *Alternaria*. Туя, улица Обручева



Надо понимать, что СУЛДР не имеет только вторичное проявление. Из-за массовости своего развития, большого количества образуемых конидий патогенов, значительного проявления агрессивности, ведущего к повышению фитосанитарного и санитарного потенциалов и рисков, СУЛДР в современных урбанизированных условиях становится опасной самостоятельной проблемой. Для ее решения необходимы специальные алгоритмы, направленные на снижение развития СУЛДР в городских условиях.

Благодарности

Авторы благодарны ООО «Европарк» за научнотехническую поддержку данного исследования.

Список литературы

1. Смирнова О.Г., Смирнов А. Н. Микозы как причина сопряженного увядания листвы древесных растений (СУЛДР) в условиях г. Москва // Успехи медицинской микологии. — 2019. — Т. 20. — С. 600–606.
2. Смирнова О.Г., Смирнов А. Н. Сравнение родового состава возбудителей микозов, ослабленных древостоев, почв под ослабленными древостоями, завезенных грунтов и урбосферы Москвы // Успехи медицинской микологии. — 2019. — Т. 20. — С. 581–585.
3. Смирнова О.Г., Приходько Е.С., Зайцев Д.В. Некоторые общие проблемы и вызовы, стоящие перед защитой картофеля и лесных культур // Защита картофеля. — 2019. — №2. — С. 7–11.

ВЛИЯНИЕ ДРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ НА ОЦЕНКУ ДЕКОРАТИВНОСТИ ДРЕВОСТОЕВ

Смирнова О.Г., Смирнов А.Н.

Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва

В профессиональной среде хорошо известно, что дереворазрушающие грибы активно влияют на категории состояния древостоев. Они оказывают крайне негативное влияние на проявление их жизнеспособности в урбанизированных условиях [1, 2].

Трутовые грибы активно развиваются на сухостоях. Однако они способны развиваться и на деревьях с листвой, постепенно вызывая их гибель. Наличие лишайников считали критерием сохранения жизнеспособности. Между тем, деревья с лишайниками (ивы, тополя, дубы) поражались ложным трутовиком (рис. 1), а березы — настоящим, реже березовым трутовиком в условиях Москвы, сохраняя листву. При этом они получали аварийный статус. Он связан с повышенной фаутичностью из-за прогрессирующих гнилей древесины (рис. 2), у клена ясенелистного — из-за развития кап (рис. 3).

Ломкость древесины при сильном ветре или снегопаде провоцировала массовое падение деревьев в виде ветролома или ветровала [3].

Цель настоящего исследования — оценить влияние проявлений развития дереворазрушающих грибов на оценку декоративности деревьев.

Рисунок 1 — Ива (слева) и тополь (справа), пораженные ложным трутовиком. Москва, февраль 2020 г., Северное Медведково



Декоративность деревьев оценивают специалисты художественных профилей — ландшафтные архитекторы, дизайнеры, артисты, историки. Интересно проследить, как такие специалисты представляют позитивный образ дерева и насколько органично в него вписываются дереворазрушающие грибы.

На наш взгляд, детская мультипликация очень часто эксплуатирует образ древостоев и способна аккумулировать представления экспертов творческих профессий о влиянии дереворазрушающих грибов на позитивный образ древостоев. Здесь интересно про-

Рисунок 2. Обрушение ивы на машину. Москва, Преображенская площадь, 2017 г.



Рисунок 3. Капы на стволе клена ясенелистного. Москва, Северное Медведково, 2017 г.



следить, насколько часто древоразрушающие грибы встречаются в мультипликационных фильмах и как они сочетаются с образом дерева как позитивной комфортной среды.

Во многих просмотренных нами мультфильмах признаки древоразрушающих грибов на деревьях отсутствовали. Но в 4 известных мультфильмах они присутствовали.

Так, в российском мультфильме «Как поймать перо жар-птицы» плодовые тела вешенки очень оживляют пейзаж, представляя собой узловую точку изображения, на фоне которого действуют герои мультфильма.

В советском мультфильме «Петя и Красная шапочка» стилизованные плодовые тела трутовика настоящего а также плодовые тела различных агариковых грибов являются неотъемлемой частью антуража, художественного замысла мультфильма, на фоне которого органично происходит и разворачивается его действие. Развитие сюжета трудно себе представить без данных грибов.

В мультсериале «Лунтик и его друзья» дерево ива, пораженное трутовиками, напоминающими ложный трутовик, служит домом и комфортной средой обитания для основных героев. Плодовые тела трутового гриба они даже используют в качестве лестницы для входа в свой дом, расположенный на данном дереве.

Наконец, в диснеевском сериале «Феи. Тайна зимнего леса» плодовые тела трутовика плоского, хотя и располагаются на упавших стволах и пнях (что микологически соответствует реальной картине) также очень оживляют пейзаж, нередко становятся центральным местом действия, как бы привлекая к себе персонажей мультсериала.

Таким образом, древоразрушающие грибы в художественной оценке лесов — это естественный элемент, ограниченно вписывающийся в окружающую природу, на фоне которого спокойно и естественно происходят события. И это полностью моделируют современную урбанизированную среду: парки, скверы, улицы. К древоразрушающим грибам относятся либо нейтрально, либо даже положительно. На фоне красоты древостоев, пораженных древоразрушающими грибами, зачастую маскируется опасность от возможности их обрушения. И в этом аспекте декоративность и жизнеспособность древостоев в урбанизированной среде — понятия противоположные, что надо понимать и учитывать в интегральных оценках и мониторинге древостоев в городах и примыкающих к ним лесах защитного назначения.

Список литературы

1. Смирнов А.Н., Смирнова О.Г. Иммуитет растений как фактор, сдерживающий сопряженные увядания растений в условиях урбанизированной среды // *Аграрная наука*. — 2019. — Т. 2. — С. 46–49.
2. Смирнова О.Г., Смирнов А.Н. *Влияние трутовых грибов на категории фитосанитарного состояния насаждений в условиях мегаполиса* / Современная микология в России. Материалы III международного микологического форума. — М., 2015. — Том 5. — Дополнение. — С. 381–383.
3. Смирнова О.Г., Смирнов А.Н. Микозы древостоев и обширный снегопад — сопряженные факторы частого падения древостоев в феврале 2018 г. в Московской и Московской области // *Успехи медицинской микологии*. — 2018. — Т. 19. — С. 66–69

ВИДОВОЙ СОСТАВ ПАТОГЕНОВ ХРИЗАНТЕМЫ КОРЕЙСКОЙ В КОЛЛЕКЦИОННОМ ФОНДЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Тимофеева В.А., Головченко Л.А., Цеханович С.В.
Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск

Центральный ботанический сад НАН Беларуси является держателем коллекций живых растений, которые являются Национальным достоянием Республики Беларусь. Хризантема известна более двух тысяч лет и получила признание во многих странах, особенно в Китае и Японии. Первые сорта хризантемы были привлечены в ботанический сад в 1965 г. в состав коллекции «Малораспространенные цветочные растения», а с 1981 г. создана самостоятельная коллекция хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum* (H. Lev. & Vaniot) Nakai ex T. Mori). Коллекционный фонд хризантемы корейской насчитывает более 200 сортов растений, которые обладают различной формой и окраской соцветий, габитусом куста, сроками цветения. Сорта хризантемы корейской гибридного происхождения легко размножаются, стабильны в культуре, отличаются устойчивостью к низким температурам в зимний период. Пополнение коллекционного фонда хризантемы с 1965 г. происходит за счет интродукции новых сортов ино-

странной селекции (Украина, Россия, Латвия, Литва, Молдова), наиболее приспособленных к почвенно-климатическим условиям Беларуси [1].

Сохранение биологического разнообразия коллекционного фонда хризантемы корейской во многом зависит от фитосанитарного состояния растений. В ботанических садах формирование патогенной флоры идет быстрее, чем в природных условиях, из-за большей концентрации вредных организмов и видов растений. На интродуцированных растениях могут поселиться не свойственные им патогены. В свою очередь, вместе с завезенным посадочным материалом проникают возбудители болезней, которые попадают в такие же, а иногда и в более благоприятные для их развития условия, быстро распространяются [2]. За все время существования коллекции целенаправленного исследования ее фитосанитарного состояния не проводилось, имеются лишь отрывочные сведения по основным вредителям и болезням хризантем [3].

Лабораторией защиты растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси проведен мониторинг за динамикой развития возбудителей болезней хризантемы корейской в посадках коллекционного фонда ботанического сада с целью разработки мероприятий по защите растений. Проведено обследование фитосанитарного состояния 174 сортов хризантемы в открытом грунте. Фитосанитарное состояние растений оценивали в 2017–2019 гг. В ходе обследований отбирали образцы растений с симптомами поражения болезнями для уточнения видового состава патогенов в лабораторных условиях. Идентификацию патогенов осуществляли путем микроскопирования по общепринятым методикам [4, 5] с использованием соответствующих определителей [6]. Таксономическое описание возбудителей болезней растений дано в соответствии с актуальными данными интернет-портала Index Fungorum [7]. Проведена оценка устойчивости сортов хризантемы к наиболее вредоносным болезням растений, Учеты проводили на растениях в период максимального развития болезней, глазмерным методом с использованием общепринятых шкал.

В коллекционном фонде хризантемы корейской отмечены серая гниль, септориозная пятнистость, увядание растений. Фитопатогенный комплекс хризантемы корейской в открытом грунте был представлен 4 видами грибов — *Botrytis cinerea* Pers, *Septoria chrysanthemella* Sacc., *Fusarium oxysporum* Schldl. и *Verticillium dahlia* Kleb.

Наиболее распространенным заболеванием за годы наблюдений являлась серая гниль. При поражении растений серой гнилью на листьях и стеблях образовывались бурые, быстро увеличивающиеся пятна неправильной формы без окаймления. Пораженные ткани засыхали и растрескивались. При сильном распространении болезни поражались бутоны и лепестки цветков, которые также бурели и засыхали. В вегетационный период 2018 г. в посадках коллекционного фонда хризантемы наблюдалось эпифитотийное развитие серой гнили (развитие болезни — от 2,8 до 83,3%, при распространенности от 40,0 до 100%). Высокую устойчивость к серой гнили (без признаков поражения) проявил 71 сорт, относительную устойчивость (развитие болезни от 2,8 до 9,4%, при распространенности 11,1–50,0%) — 47 сортов хризантемы. Средне восприимчивы (развитие болезни от 10,7 до 25,0%, при распространенности 50,0–100,0%) к болезни 43 сорта, восприимчивы (развитие болезни от 28,1 до 50,0%, при распространенности 62,5–100%) 10 сортов, высоко восприимчивы (развитие болезни от 75,0 до 83,3%, при распространенности 100%) 3 сорта.

При поражении растений септориозной пятнистостью на листьях появлялись округлые пурпурно-коричневые пятна, со временем центр некроза светлел, но оставалась широкая коричневая кайма. Пятна увеличивались, сливались, покрывали большую часть листовой пластинки. С верхней стороны пятен формировались мелкие бурые плодовые тела зимующей стадии гриба. Листья преждевременно засыхали. В посадках растений хризантемы корейской наблюдалось депрессивное развитие септориозной пятнистости листьев (развитие болезни от 3,6 до 9,4%, при распространенности 14,3–37,5%). Развитие

пятнистости наблюдалось только на 2 сортах — Золотая осень, Фиолетовая.

Наиболее вредоносными для растений хризантемы корейской являются возбудители увядания — патогенные грибы *Fusarium oxysporum* и *Verticillium dahlia*. При фузариозном увядании в период бутонизации — цветения листья увядают, начиная снизу, часто не теряя зеленой окраски; основание стебля и стебель чернеет, загнивает; корни растения отмирают. На пораженных тканях появляется редкий светлый налет грибицы. Листья скручиваются, буреют, увядают. При вертициллезном увядании листья желтеют, увядают, соцветия блекнут, поникают. На срезе стебля видно кольцо побуревших сосудов. Развивается медленнее, чем фузариоз. Болезни увядания часто распространяются при укоренении черенков, взятых с больных растений.

В годы исследования в посадках коллекционного фонда хризантемы высокую устойчивость к фузариозному увяданию (не отмечено поражение растений) проявили растения большинства сортов коллекционного фонда — 162 сорта, относительную устойчивость (развитие болезни от 2,8 до 8,3%, при распространенности 11,1–33,3%) — 7 сортов. Средневосприимчивы (развитие болезни от 12,5 до 25,0%, при распространенности 40,0–100,0%) — 2 сорта, восприимчивы (развитие болезни от 27,8 до 44,4%, при распространенности 100%) — 3 сорта. Вертициллезное увядание растений отмечено только на растениях 1 сорта (развитие болезни 44,4%).

В результате фитопатологических наблюдений на протяжении 2016–2019 гг. на хризантеме корейской в открытом грунте не выявлено распространение и развитие мучнистой росы, альтернариоза, бактериальной пятнистости листьев, вирусной крапчатости жилок листьев, которые зарегистрированы в других регионах выращивания хризантемы.

Поражение растений серой гнилью, септориозной пятнистостью листьев, болезнями увядания значительно снижает декоративность растений. Устойчивость растений зависит от биологических особенностей сорта и условий выращивания, которые оказывают существенное влияние как на растение, изменяя его сопротивляемость, так и на возбудителя, усиливая или подавляя его патогенность в конкретных экологических условиях. Соблюдение агротехники выращивания хризантемы в коллекционном фонде Центрального ботанического сада НАН Беларуси способствует поддержанию надлежащего фитосанитарного состояния и сохранению коллекционного фонда растений.

Список литературы

1. Володько И.К., Гончарова Л.В., Титок В.В. и соавт. Центральный ботанический сад НАН Беларуси: коллекции и экспозиции: путеводитель. — Минск: Беларуская навука, 2019. — С. 44–48.
2. Горленко С.В., Панько Н.А. Вредители и болезни интродуцированных растений. — Минск: Наука и техника, 1967. — 136 с.
3. Болезни и вредители декоративных растений в насаждениях Беларуси / В.А. Тимофеева [и др.]. — Минск: Беларуская навука, 2014. — С. 73–76.

4. Методы экспериментальной микологии: Справочник / И.А. Дудка [и др.]; под общ. ред. В.И. Билай. — Киев: Наукова думка, 1982. — 550 с.
5. Микроорганизмы — возбудители болезней растений / В.И. Билай [и др.]; под ред. В.И. Билай. — Киев: Наук. думка, 1988. — 552 с.
6. Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель: в 3 т. — Киев: Наукова думка, 1977.
7. Index Fungorum. — URL: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. (дата обращения 29.11.2019).

АНАЛИЗ СПИСКА МИКОБИОТЫ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ НА ПРЕДМЕТ ВЫЯВЛЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МАКРОМИЦЕТОВ

Вайшля О.Б., Шабанова Н.Ю.

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Представители царства *Mycota* сопровождают человечество с доисторических времен, о чем свидетельствуют первые неолитические рисунки грибов на плато Тассилин-Аджер в Алжире, устно передаваемые древние знания о лекарственных свойствах некоторых видов, традиции использования съедобных грибов как единственного вида пищи в периоды проливных дождей в теплых странах, применение психоактивных веществ макромицетов в культовых религиозных обрядах. Интересна гипотеза Маккенны о возможной роли галлюциногенных грибов в эволюции сознания *Homo sapiens*. Тысячелетняя культура использования лекарственных и съедобных грибов сохранилась в Китае, Японии, Корее, Монголии. В отличие от Восточной Европы, население стран Западной Европы, Северной Америки редко собирают грибы для приготовления пищи.

С момента открытия Александром Флемингом исторически первого антибиотика *Penicillium notatum* в 20-е годы прошлого столетия и доказательства в 1968 году японскими учеными Т. Ikekawa с коллегами противоопухолевой и иммуномодулирующей активности полисахарид-протеиновых комплексов *Phellinus linteus*, было подтверждено много древних знаний о лекарственных свойствах шляпочных грибов. Например, были клинически проверены лечебные свойства, идентифицированы специфические, зачастую уникальные вещества макромицетов, применяемых согласно древним восточным традициям — *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) P. Karst.) и шиитаке (*Lentinus edodes* (Berk.) Singer), а также грибов, которыми лечили восточноевропейские знахари — *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Pilát (чага), *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bond. et Singer (трутовик лекарственный), *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr.) P. Karst. (березовый трутовик) и *Fomes fomentarius* Fr.: Fr. (трутовик настоящий).

В настоящее время из 2000 неядовитых макромицетов насчитывается лишь около 700 фармакологически значимых видов [1]. В России единственным официально зарегистрированным лекарственным препаратом Фармакопеи СССР на основе гриба *Inonotus obliquus* является Бефунгин, насколько это известно нам. Данный вид макромицета обладает широким спектром активности, что связано с присутствием в чаге сложного хромоген-полифенолоксикарбонового комплекса, в который входят пигмент меланин, гуминовые кислоты,

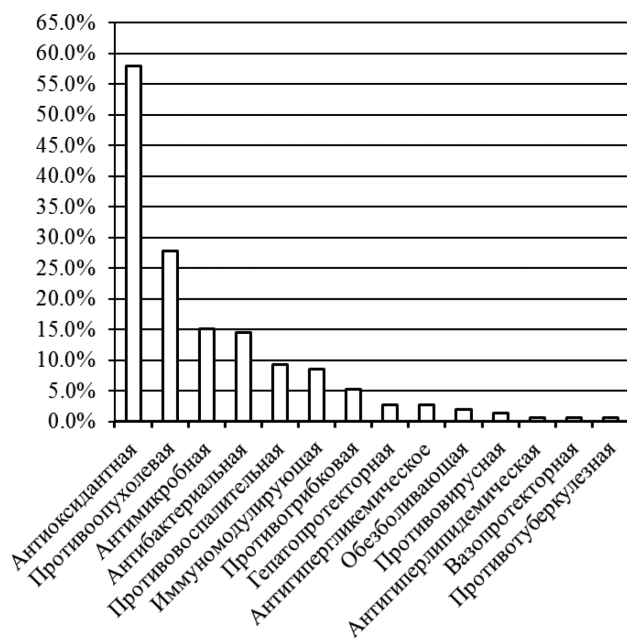
терпеноиды, стеролы [2]. Биологическая активность базидиомицетов, как правило, определяется наличием в них гликанов. Главное достоинство грибных полисахаридов — отсутствие токсичности. При этом они способны индуцировать иммунитет и корректировать патологические состояния, связанные с нарушением функций иммунной системы, приводя их к норме [3].

Одной из важнейших проблем фармакологической микологии является длинный путь от знания по применению определенного вида гриба в народной медицине до его регистрации в качестве лекарственного препарата. Активные компоненты грибов имеют очень сложную биохимическую структуру, существуют в разнообразных формах и конформациях, клинические испытания очень длительны и дороги, действующие вещества зачастую работают в синергизме с другими соединениями, их образование зависит от условий культивирования грибов, часто невозможно стандартизировать такой препарат по чистому активному компоненту препарата.

Именно с этим связано отсутствие достаточного количества фармакопейных препаратов на основе шляпочных грибов. Фармацевтические компании, разрабатывающие новые препараты, нуждаются в источниках новых веществ природного происхождения. Макромицеты являются прекрасным природным, возобновляемым источником, который за короткое время может быть использован для производства новых фармацевтиков. В настоящее время приоритетной задачей этого направления становится открытие новых видов шляпочных грибов, обладающих лекарственными свойствами. Целью работы являлся анализ списка микобиоты лесов Томской области на предмет выявления фармакологически значимых видов.

Трудами микологов Томского госуниверситета — Л.С. Миловидовой, Н.Ю. Толстовой, Н.В. Перовой, Н.Н. Кудашовой, С.И. Гашковым с середины прошлого века по настоящий момент подготовлен список микобиоты Томской области, включающий 1274 вида [4;5]. Коллекция образцов макромицетов «*Микота*» музейного фонда ТГУ, собранных преимущественно на территории Томской области, насчитывает более 7000 образцов, из них около 1500 видов определены. Тем не менее, лесные биоценозы, являясь базовыми территориями для заготовок дикоросов в Томской области, наименее изучены с точки зрения видового состава ма-

Рисунок — Биологическая активность лекарственных макромицетов Томской области, %



кромицетов. Все еще остаются неопределенными около 20–25% сборов коллекционного фонда, предполагается выявление в ближайшие годы еще примерно такого же числа видов. Слабо изучены образцы таких крупных родов, как *Cortinarius*, *Clitocybe*, *Entoloma*, *Inocybe*, *Muscena*, *Psathyrella*.

Территория Томской области с точки зрения микологии представляет интересный, но еще мало исследованный район. Здесь открыто много редких и исчезающих, новых для России и Западной Сибири видов, встречаются горные, японские и северо-американские виды.

Анализ списка микобиоты проводили на основании поиска публикаций по исследованиям лекарственных свойств конкретных видов макромицетов. Использовали полнотекстовые электронные ресурсы Научной библиотеки ТГУ, а также базы данных научных публикаций Scopus, Web of Science, Google Scholar, PubMed, Sci-hub и др. Всего найдено 195 ссылок, итог представлен на рисунке.

Показано, что лекарственные виды составляют более 10% от всей микобиоты Томской области и содержат широкий спектр биологически активных веществ. Более 50% макромицетов обладают антиоксидантным действием. Противоопухолевое действие оказывают около 25% лекарственных грибов. В семейство

Russulaceae входит 96 коллекционных видов, 13 из которых являются лекарственными грибами с антимикробной и антиоксидантной активностью. В семействе *Cantharellaceae* два вида из четырех обладают антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. В семействе *Boletaceae* — 4 вида лекарственных из 22. В следующих систематических порядках макромицетов не было обнаружено лекарственных видов: *Mytiliniaceae*, *Pleosporaceae*, *Helotiales*, *Leotiaceae*, *Rhytismataceae*, *Orbiliomycetes*, *Microascales*, *Coniochaetales*, *Sordariaceae*, *Amylocorticiaceae*, *Phallaceae*, *Auriculariaceae*.

Поскольку одним из перспективных направлений фармакологической микологии является изучение различных штаммов лекарственных грибов, нами введено в культуру *in vitro* четыре штамма *Neolentinus lepideus* с различной субстратной приуроченностью. Образцы плодовых тел были собраны на шпалах, пропитанных креозотом, на *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica*, *Betula pendula*. Проведена очистка от микофильных грибов, подобрана оптимальная среда культивирования, начато изучение метаболомного профиля и антивирусной активности.

Список литературы

1. Вассер С.П. Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, доказательства и вызовы // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». — 2015. — Т. 7. — № 2. — С. 238–248.
2. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири — перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. — Новосибирск, 2014. — 298 с.
3. Белова Н. В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микология и фитопатология. — 2004. — Т. 38. — Вып. 2. — С. 1–7.
4. Кудашова Н. Н., Гашков С. И., Кутафьева Н. П. Предварительный список макромицетов Томской области: подотдел Pezizomycotina (Ascomycota) и класс Agaricomycetes (Basidiomycota) // Систематические заметки по материалам Гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. — 2013. — № 107. — С. 22–70.
5. Кудашова Н. Н., Гашков С. И., Вайшла О. Б. Дополнительные данные к списку макромицетов Томской области // Систематические заметки по материалам гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. — 2016. — № 114. — С. 49–60.

РОД *DAEDALEOPSIS* SCHROET НА УРАЛЕ

Владыкина В.Д.

Уральский федеральный университет, Институт естественных наук и математики, кафедра биоразнообразия и биоэкологии, Екатеринбург

Несмотря на длительное изучение дереворазрушающих грибов на Урале, ежегодные исследования позволяют дополнить и расширить данные о определенных систематических группах базидиомицетов. В частности, о такой их интересной с экологической точки зрения группе, как виды рода *Daedaleopsis* Schroet.: *D. confragosa* (Bolton) J. Schröt., *D. septentrionalis* (P. Karst.) Niemelä и *D. tricolor* (Bull.) Bondartsev & Singer.

Для них характерны однолетние плодовые тела в виде сидячих шляпок с бледно-коричневой, темно-красной верхней поверхностью, с пластинчатым или трубчатым гименофором. Контекст бледно-бурый, гифальная система тримитическая, скелетные и связывающие гифы бледно-коричневые. Базидиоспоры цилиндрические, слегка изогнутые, гиалиновые. Грибы данного рода участвуют в разложении преимущественно лиственной, реже хвойной древесины, вызывают белую гниль. Типовым видом рода является *D. confragosa* (Gilbertson et al., 1986, Ryvarden et al., 1993).

Все три вида встречаются в России, на Урале (Степанова-Картавенко, 1967; Бондарцева, 1998, Shiryaev A.G. et al., 2010). На протяжении нескольких лет нами ведутся работы по созданию базы данных по экологии и распространению видов рода *Daedaleopsis* на Урале и смежных с ним регионах. В настоящее время база данных включает сведения о 238 находках, в том числе коллекционные образцы и данные из научных литературных источников. Коллекция хранится в гербарии кафедры биоразнообразия и биоэкологии ИЕиМ УрФУ. Из них *D. confragosa* — 69, *D. tricolor* — 110, *D. septentrionalis* — 59. По физико-географическим областям Урала находки данных видов распределяются следующим образом: Полярный Урал — 2 (все — *D. confragosa*), Приполярный Урал — 9 (все 3 вида, но преобладает *D. confragosa*), Северный Урал — 9 (все 3 вида, но преобладает *D. confragosa*), Средний Урал — 184 (все 3 вида, но преобладает *D. tricolor* — 50% находок), Южный Урал — 34 (все 3 вида, но преобладает *D. tricolor* — 50% находок).

Анализ трофических спектров видов рода *Daedaleopsis* показывает, что они развиваются на древесине 7 видов (*Betula*, *Alnus*, *Padus*, *Populus*, *Quercus*, *Sorbus*, *Salix*). По приуроченности к тем или иным дре-

весным породам распределение трутовых грибов следующее: *D. tricolor* (*Betula* — 78%, *Alnus* — 10%, *Padus* — 7%, *Populus* — 3%, *Quercus* — 1%, *Sorbus* — 1%), *D. septentrionalis* (*Betula* — 81%, *Padus* — 11%, *Alnus* — 6%, *Populus* — 2%), *D. confragosa* (*Salix* — 48%, *Populus* — 30%, *Betula* — 11%, *Alnus* — 11%).

Таким образом, все три вида рода *Daedaleopsis* выделяемые на основе особенностей морфологического строения базидиокарпов, встречаются на Урале. Из них наиболее часто встречающимся является *D. tricolor*, а *D. confragosa* и *D. septentrionalis* встречаются с одинаковой периодичностью (29% и 25%). *D. confragosa* преимущественно развивается на древесине древовидных ив и в силу этого, приурочен к пойменным биотопам. *D. septentrionalis* и *D. tricolor* преимущественно развиваются на древесине березы и встречаются не только в пойменных, но и в зональных биотопах.

В настоящее время база данных готовится для размещения в GBIF (www.gbif.org).

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области: проект 20-44-660012 p_a.

Список литературы:

1. Gilbertson R. L., Ryvarden L. North American Polypores. Vol. 1: Abortiporus-Lindtneria. — Oslo, 1986. — P. 1–433.
2. Ryvarden L., Gilbertson R. European Polypores. Part 1: Abortiporus Lindtneria. Synopsis Fungorum 6. — Oslo, 1993. P. 1–387.
3. Степанова-Картавенко Н.Т. Афиллофоровые грибы Урала. Свердловск: УФАН СССР, 1967. 293 с.
4. Бондарцева М. А. Определитель грибов России. Порядок Афиллофоровые. Вып. 2. — СПб.: Наука, 1998. — 391 с.
5. Shiryaev A.G., Kotiranta H., Mukhin V.A., Stavishenko I.V., Ushakova N.V. Aphyllophoroid fungi of Sverdlovsk region, Russia: biodiversity, distribution, ecology and the IUCN threat categories. Ekaterinburg: Goshchitskiy Publ., 2010. 304 p.

АГАРИКОМИЦЕТЫ НА ДРЕВЕСИНЕ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЧЕРНОЗЕМЬЯ РОССИИ

Волобуев С.В., Большаков С.Ю.

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

Центральное Черноземье (ЦЧ) — один из важнейших в сельскохозяйственном отношении регионов России. В составе ЦЧ нами рассматриваются Белгородская, Воронежская, Курская, Липецкая, Орловская и

Тамбовская области. Широкое распространение здесь имеют садовые агроценозы, включающие как значительные по площади садоводческие хозяйства, так и многочисленные приусадебные насаждения плодовых

семечковых и косточковых культур. В 90-е годы XX века значительные площади садов перестали получать должный садоводческий и фитосанитарный уход, что привело к существенному ухудшению состояния плодовых деревьев и распространению особой группы фитопатогенных грибов — дереворазрушающих, или ксилотрофных, базидиомицетов. Внимание фитопатологов нередко отстраняется от изучения дереворазрушающих грибов, которые также вызывают патогенез плодовых культур. Несомненно, развитие ксилотрофных грибов носит более длительный характер, что приводит к возникновению хронических стволовых гнилей (Змитрович и др., 2018), связанных преимущественно с патогенной активностью некоторых видов афиллофороидных грибов.

В то же время, для регионов ЦЧ отсутствуют какие-либо полные сводки по ксилотрофным видам агарикомицетов на плодовых культурах, включая основные из них — *Malus domestica* Borkh., *Pyrus communis* L., *Prunus cerasus* L., *P. domestica* L. Дереворазрушающие агарикомицеты играют особенную роль в плодородных хозяйствах, поскольку вызывают некротические и гнилевые болезни, приводящие к ослаблению или гибели деревьев, снижая урожаи. В масштабах бывшего СССР наиболее полный список агарикомицетов на плодовых культурах (78 видов) можно получить из монографии И. С. Попушой (1971).

Специальные исследования трутовых грибов на территории Центрального Черноземья проводились в начале XX века (Бондарцев, 1953), в результате чего были заложены основы для проведения мониторинга данной группы фитопатогенов. В последующие годы сведения о распространении грибных возбудителей стволовых и корневых гнилей плодовых деревьев встречаются в литературе крайне фрагментарно, в основном как результаты изучения видовой разнообразия микобиоты отдельных регионов в различных типах местообитаний (Сарычева и др., 2009; Волобуев, 2015; и др.).

В рамках данного исследования проведен анализ доступных данных, включая научные публикации, перечисляемые в обзоре С. В. Волобуева и С. Ю. Большакова (2016), а также последующие работы (Большаков, Волобуев, 2016; Volobuev et al., 2018; Волобуев и др., 2019; Volobuev, 2019) и материалы микологических гербариев LE (БИН РАН) и ОНН (Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева). В условиях ЦЧ на древесине плодовых деревьев (*Malus*, *Pyrus* и *Prunus*) выявлено 69 видов агарикомицетов из 49 родов. В гербариях LE, ОНН, VOR хранятся образцы 52 видов из этих 69.

Максимальное число видов, развивающихся на древесине этих пород, известно для Белгородской области — 38 видов, далее для Орловской — 22, Курской — 21, Липецкой — 13, Воронежской — 6, Тамбовской — 2 вида (таблица).

Больше всего видов грибов известно для *Malus* — 38, для *Pyrus* — 30, и для *Prunus* — 21 видов. Среди представителей рода *Prunus* распределение следующее: на *P. armeniaca* L. отмечен 1 вид (*Peniophora incarnata* (Pers.) P. Karst.), на *P. cerasus* — 4 вида, на *P. domestica* — 7, на *P. spinosa* L. — 11 видов.

Большинство выявленных видов являются эвритрофами и способны развиваться на широком спек-

тре древесных пород. Практически отсутствуют виды, специализированные к плодовым культурам. Так, *Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire отмечается исключительно на плодовых деревьях, и ассоциирован с видами *Prunus* и *Malus*. Имеющиеся данные по видовому комплексу *Phellinus igniarius* s. l., к которому относится данный вид, свидетельствуют также о произрастании *Ph. alni* (Bondartsev) Parmasto на древесине *Malus*, и строгой приуроченности *Ph. pomaceus* к видам рода *Prunus* (Tomšovský et al., 2010). Необходимо установление точной таксономической принадлежности образцов грибов данного комплекса, развивающихся на древесине *Malus*, с привлечением верифицированных материалов и молекулярных методов.

Таблица — Распределение видов афиллофороидных грибов, ассоциированных с древесиной плодовых пород по регионам ЦЧ.

Регион	Всего	Malus	Pyrus	Prunus
Всего	69	38	30	21
Белгородская область	38	21	14	14
Воронежская область	6	4	—	4
Курская область	21	11	13	3
Липецкая область	13	9	3	2
Орловская область	22	15	7	3
Тамбовская область	2	1	—	1

Sarcodontia crocea (Schwein.) Kotl. в большинстве случаев строго приурочен к *Malus*, гораздо реже к *Pyrus*, и только в единичных случаях отмечался также на *Acer platanoides* L. (Волобуев, 2015). Интересно опубликованное в литературе обнаружение *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., развивающегося почти исключительно на *Quercus robur* L., на древесине *Malus* и *Pyrus* (Рябова, Игнатенко, 1981), хотя для этого вида известно, что в очень редких случаях он отмечался и на других лиственных породах (Ryvarden, Melo, 2017).

Большинство из выявленных видов (61) вызывают белую гниль. Только 6 видов (*Coniophora puteana* (Schumach.) P. Karst., *Fistulina hepatica*, *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Postia balsamea* (Peck) Jülich, *P. subcaesia* (A. David) Jülich) вызывают бурю гниль.

Патогенная активность достоверно отмечена для 14 видов грибов, выявленных на стволах и ветвях живых деревьев и вызывающих некрозы и стволовые гнили: *Aurantiporus fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) H. Jahn ex Ryvarden (на *Malus*), *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. (на *Pyrus*), *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar (на *Prunus*), *Inocutis rheades* (Pers.) Fiasson & Niemelä (на *Prunus*), *Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst. (на *Malus*), *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. (на *Malus*), *Laetiporus sulphureus* (на *Pyrus*), *Oxyporus obducens* (Pers.) Donk (на *Malus*), *Phellinus pomaceus* (на *Prunus* и *Malus*), *Sarcodontia crocea* (на *Malus*), *Schizophyllum commune* Fr. (на *Malus* и *Prunus*), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (на *Prunus*), *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd (на *Malus*), *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer (на *Malus*).

25 видов отмечены на сухостойных стволах и сухих ветках в кронах живых деревьев: *Aurantiporus fissilis* (на *Malus*), *Basidiaradulum radula* (Fr.) Nobles (на *Ma-*

lus), *Bjerkandera adusta* (на *Malus*), *Byssomerulius corium* (Pers.) Parmasto (на *Malus*), *Cerioporus leptoccephalus* (Jacq.) Zmitr. (на *Pyrus*), *Ceriporia purpurea* (Fr.) Donk (на *Pyrus*), *Coniophora puteana* (на *Pyrus*), *Crustomyces expallens* (Bres.) Hjortstam (на *Malus*), *Dichomitus campestris* (Quél.) Domański & Orlicz (на *Malus*), *Fomitiporia punctata* (P. Karst.) Murrill (на *Malus*), *Hydnoporia tabacina* (Sowerby) Spirin, Miettinen & K.H. Larss. (на *Malus*), *Lyomyces crustosus* (Pers.) P. Karst. (на *Pyrus*), *Peniophora cinerea* (Pers.) Cooke (на *Malus* и *Pyrus*), *Peniophora incarnata* (на *Prunus*), *Peniophora nuda* (Fr.) Bres. (на *Pyrus*), *Peniophorella praetermissa* (P. Karst.) K.H. Larss. (на *Malus*), *Phanerochaete jose-ferreirae* (D.A. Reid) D.A. Reid (на *Malus*), *Phanerochaete velutina* (DC.) P. Karst. (на *Pyrus*), *Phellinus pomaceus* (на *Prunus*), *Sarcodontia crocea* (на *Pyrus*), *Schizophyllum commune* (на *Malus*), *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J. Erikss. (на *Malus*), *Stereum hirsutum* (на *Malus*, *Pyrus* и *Prunus*), *Trametes hirsuta* (на *Malus*), *Trametes ochracea* (Pers.) Gilb. & Ryvardeen (на *Pyrus*).

В качестве высоковередоносных патогенов, вызывающих существенные снижения урожая плодовых культур, вследствие усыхания и гибели как отдельных частей, так и всего растения, можно выделить *Aurantiporus fissilis*, *Chondrostereum purpureum*, *Inonotus hispidus*, *Irpex lacteus*, *Laetiporus sulphureus*, *Phellinus pomaceus*, *Sarcodontia crocea*, *Stereum hirsutum*, *Trametes hirsuta*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых — кандидатов наук (МК–3216.2019.11).

Список литературы

1. Большаков С. Ю., Волобуев С. В. Новые сведения об афиллофороидных грибах Ямской степи (заповедник «Белогорье», Белгородская область) // Бюллетень Брянского отделения РБО. 2016. № 2. С. 18–25.
2. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. 1106 с.
3. Волобуев С. В. Афиллофороидные грибы Орловской области: таксономический состав, распространение, экология. СПб.: Изд-во «Лань», 2015. 304 с.
4. Волобуев С. В., Большаков С. Ю. Афиллофороидные грибы Среднерусской возвышенности. 1. История изучения и некоторые новые данные // Микология и фитопатология. 2016. Т. 50, № 6. С. 335–346.
5. Волобуев С. В., Большаков С. Ю., Шахова Н. В. Мониторинг ксилотрофных базидиомицетов — фитопатогенов семечковых плодовых культур в Белгородской области // Материалы XXI Международной научной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и юга России» (г. Магас, 15–18 ноября 2019 г.) / отв. ред. М. К. Дакиева. Магас, 2019. С. 42–45.
6. Змитрович И. В., Фирсов Г. А., Бондарцева М. А., Волобуев С. В., Большаков С. Ю. Базидиомицеты — возбудители хронических гнилей деревьев Ботанического сада Петра Великого Ботанического института имени В. Л. Комарова РАН: диагностика, биология, распределение по территории // Hortus botanicus. 2018. Т. 13. С. 182–204.
7. Попухой И. С. Микофлора плодовых деревьев СССР. М.: Наука, 1971. 465 с.
8. Рябова В. П., Игнатенко О. С. Материалы по флоре макромицетов Центрально-Черноземного заповедника // Флористические исследования в заповедниках РСФСР / отв. ред. В. А. Забродин. М., 1981. С. 124–142.
9. Сарычева Л. А., Светашева Т. Ю., Булгаков Т. С., Попов Е. С., Малышева В. Ф. Микобиота Липецкой области. Воронеж: Изд.-полиграф. центр Воронеж. гос. ун-та, 2009. 287 с.
10. Ryvardeen L., Melo I. Poroid fungi of Europe. Second revised edition. Oslo: Fungiflora, 2017. 430 p.
11. Tomšovský M., Vampola P., Sedlák P., Byrtusová Z., Jankovský L. Delimitation of central and northern European species of the *Phellinus igniarius* group (Basidiomycota, Hymenochaetales) based on analysis of ITS and translation elongation factor 1 alpha DNA sequences // Mycological Progress. 2010. Vol. 9, № 3. P. 431–445.
12. Volobuev S. V. To the study of aphylloroid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) in Shebekinsky District, Belgorod Region // Разнообразие растительного мира. 2019. № 3. P. 21–25.
13. Volobuev S., Arzhenenko A., Bolshakov S., Shakhova N., Sarycheva L. New data on aphylloroid fungi (Basidiomycota) in forest-steppe communities of the Lipetsk region, European Russia // Acta Mycologica. 2018. Vol. 53, № 2. Art. 1112.

ГРИБЫ НА ОТМЕРШИХ ФРАГМЕНТАХ *PHRAGMITES AUSTRALIS* В ПРЕСНОВОДНОЙ СРЕДЕ

Воронин Л.В.

Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского

Тростник *Phragmites australis* — космополитное прибрежно-водное растение. Анализ литературных источников позволил составить предварительный чек-лист грибов и грибоподобных организмов, отмеченных на тростнике. Он включает более 180 таксонов, среди которых паразиты, сапротрофы отмерших

растений, преимущественно разлагающихся в воздушно-наземных условиях. Участие грибов в деструкции тростника в водной среде исследовано значительно меньше. Из довольно подробных исследований видового состава и сукцессий комплексов грибов на погруженных фрагментах тростника следует отметить

работы в солоноватой воде эстуария Шельды, Нидерланды [1, 2] и в крупном озере Дянчи провинции Юньнань, Китай [3].

Нами ранее при исследовании пионерных комплексов сапротрофов погруженных в воду растительных субстратов в малых озерах получены сведения о начале их формировании на тростнике [4]. Заселение погруженных фрагментов тростника в олиготрофных озерах северной Карелии (Лоухский район) происходит медленно. В озере Кривое на листьях росли без спороношения *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link и *C. cladosporioides* (Fres.) de Vries, а в озере Круглое, помимо них, активен рос и спороносил водный гифомицет *Varicosporium elodeae* Kegel. В 11 разнотипных озерах Эстонии было отмечено, что пионерные комплексы сапротрофных грибов на тростнике находились на более низком уровне формирования, чем на отмерших плейстофитах. Основными доминантами на отмерших погруженных листьях являлись темноокрашенные гифомицеты, в основном представители родов *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phialophora*, *Taeniolella* и стерильный мицелий. В некоторых озерах (алкалитрофном и дистрофных) доминировали и *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bain., *T. koningi* Oud. Вероятно, указанные грибы поселились на отмерших листьях пока они находились в воздушной среде. Четкой связи микобиоты с типами озер не выявлено, однако, в дистрофных озерах на тростнике довольно часто встречались *Fusarium sambucinum* Fuckel, *F. sporotrichiella* Bilai var. *poae* (Pk.) Wr. emend Bilai, *F. oxysporum* (Schlecht.) Syd. et Hans. var. *orthoceras* (App. et Wr.) Bilai и в мезотрофном озере Каруярв рассматриваемый как водный гифомицет *F. aquaeductuum* (Radlk. et Rabh.) Lagh.

В 2015–2016 гг. были проведены исследования микобиоты тростника в воде озера Плещеево (Ярославская обл.). Озеро Плещеево ледникового происхождения или сформировалось в результате процессов карстообразования. Воды его относятся к кальциевой группе гидрокарбонатного класса природных вод с общей минерализацией около 300 мг/л. В 80-е годы XX века по показателям фито- и зоопланктона отмечалось интенсивное эвтрофирование озера [5]. В конце сентября 2015 г. отбирали воздушно-сухие листья тростника с растений, полностью закончивших вегетацию. Одну часть собранных листьев использовали для накопительной культуры во влажных условиях и посевов на среду Чапека, а вторую часть поместили в контейнере с частыми отверстиями в пелагиали озера и отбирали их оттуда в октябре и ноябре 2015 г., в мае, конце июня и октябре 2016 г. [6].

На листьях, лежащих на берегу, до погружения в воду во влажной камере были обнаружены *Penicillium* spp., *Phoma* sp. и стерильный мицелий. При посеве на среду Чапека выявлено пять таксонов грибов в ранге вида и разновидности (*Aureobasidium pullulans* (dBy.) Arnaud — 72,3% от общего количества колоний, *A. pullulans* (dBy.) Arnaud var. *melanigenum* Hermanides-Nijhof — 5,7%, *Cladosporium avellaneum* de Vries — 13,6%, *C. herbarum* — 5,1%, *C. elatum* (Harz) Nannf. — 2,0%) и стерильный мицелий (1,3%) [6]. Вероятнее всего это микромицеты-экрисотрофы филлопланы, которые при отмирании листьев продолжают развиваться на

мертвом субстрате, пока температура не становится лимитирующим фактором, что известно и для других макрофитов [4]. После погружения листьев тростника в водоем (на 5-е сутки) в накопительной культуре был обнаружен только стерильный мицелий, а численность грибов по данным посева на среду Чапека сократилась, и далее продолжала снижаться до конца ноября [6]. Через неделю после погружения листьев в воду на них сохраняются в основном те же самые таксоны, но при этом снижается доля *A. pullulans* var. *pullulans* (41,6%), возрастает доля *C. herbarum* (27,7%) и стерильного мицелия (15,4%). Вместе с тем выявлен *C. sphaerospermum* Penzig (5,2%) и единично терригенные виды, не раз отмечавшиеся на разлагающихся растениях в водной среде (*Acremonium charticola* (Lindau) W. Gams, *Fusarium sporotrichiella* var. *poae*) [4].

Очевидно, что водная среда является чужеродной для них. Однако, инкубация листьев в водной среде показала, что развитие через неделю проявили *Phoma* sp. (в 25% фрагментов листа) и *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (12%). В ноябре при низкой температуре воды из состава комплексов грибов на среде Чапека исчезают ауреобазидиумы и некоторые виды кладоспориев, но в небольшом количестве отмечаются так называемые терригенные микромицеты, способные развиваться в водной среде: *Acremonium* spp., *Phialophora alba* J.F.H. Beyma, *Mortierella longicola* (G.W. Martin) W. Gams et R. Moreau, *M. alpina* Peyronel — 4,2–8,3% [4,7]. В это время в накопительной культуре на влагиалищах листьев и стеблей развиваются грибоподобные виды *Saprolegnia eccentrica* (Coker) Seymour (частота встречаемости 80%), *S. ferax* (Gruith.) Thuret. (30%), *S. unispora* (Coker et Couch) Seymour (4%).

После перезимовки, в мае, на листьях в воде доминировал стерильный мицелий (более 60%) и в большом количестве выявлены два вида кладоспориев (*C. herbarum*, *C. sphaerospermum* Penzig) — около 40%. В том и другом случае, мы полагаем, что это виды, способные с незначительной активностью развиваться в водной среде. Интересно, что именно эти два вида кладоспориев развивались и на листьях, перезимовавших в наземных условиях.

В июне на погруженных листьях при значительном снижении кладоспориев широко представлены виды рода *Acremonium* (более 70%), что свидетельствует о заселении ими листьев тростника в водных условиях. Вполне вероятно, что до явного проявления роста они присутствовали в состоянии анабиоза как эндофиты. В настоящее время эти эндофиты злаков выделены в отдельный род *Neotyphodium* Glenn, Vascon et Halin. [8]. На листьях в наземных условиях они также обнаружены, но в меньшем количестве. Кроме того, выявлены те же виды рода *Cladosporium*, а также типично наземные микромицеты (*Acremonium* sp., *Mucor hiemalis* Wehmer).

Четких представлений о сукцессии комплексов сапротрофов на тростнике в пресноводной среде пока нет. Опыт показывает, что следует увеличить сроки накопительной культуры. Ошибочным, вероятно, было размещение контейнеров в пелагиали озера, а не среди типичного положения погруженных фрагментов отмершего тростника в бентали. Кроме того, ранее опубликованные работы выполнялись в солоноватой воде

умеренного пояса и в пресном субтропическом озере [1–3]. Сейчас мы продолжаем исследования с использованием данных из проточных и стоячих вод с выявлением географического тренда.

Список литературы

1. Van Ryckegem G., Verbeken A. Fungal ecology and succession on *Phragmites australis* in a brackish tidal marsh. I. Leaf sheaths// Fungal Diversity, 2005. Vol. 19. P. 157–187
2. Van Ryckegem G., Verbeken A. Fungal ecology and succession on *Phragmites australis* in a brackish tidal marsh. II. Stems// Fungal Diversity, 2005. Vol. 20. P. 209–233
3. Luo J., Yin J., Cai L., Zhang K., Hyde K.D. Freshwater fungi in Lake Dianchi, a heavily polluted lake in Yunnan, China// Fungal Diversity, 2004. Vol. 16. P. 93–112
4. Воронин Л.В. Микобиота малых озер тундровой и лесной зон. Ярославль: изд-во ЯГПУ, 2010. 156 с.
5. Экосистема озера Плещеево. Л.: Наука, 1989. 264 с.
6. Черняковская Т.Ф., Воронин Л.В. Изучение таксономического состава грибов на разлагающихся в озере Плещеево листьях тростника обыкновенного// Экология и рациональное природопользование. Материалы Всерос. научно-техн. конф.. Ярославль: ЯрГУ им. П.Г. Демидова, 2017. С. 164–166
7. Voronin L. V. Terrestrial micromycetes in freshwater ecosystems (Review)// Inland Water Biology, 2014. Vol. 7. No. 4. P. 352–356
8. Благовещенская Е.Ю. *Acremonium*-подобные грибы: разнообразие таксонов//Материалы VIII всероссийской школы-конференции с международным участием «Концепции вида у грибов: новый взгляд на старые проблемы». Сб. докладов и тезисов. М.: МГУ, 2017. С. 107–122.

ЭНДОФИТНЫЕ ГРИБЫ, ВПЕРВЫЕ ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА

Юсупов У.К., Шарипова З.О., Абдульмянова Л.И., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г.
Институт Микробиологии АН РУз, Ташкент

Резко континентальный климат Узбекистана с экстремальными условиями окружающей среды обуславливают эндемичность лекарственных растений. Такие эндемики как барвинок, мята, тюльпан, ферула, эремурус, эфедра, веками применялись на территории Средней Азии в традиционной медицине как средства обладающие антисептическими, противовоспалительными, гипотензивными, ранозаживляющими и другими свойствами [1,2].

Эндемичность растений предполагает уникальность как самих эндофитных грибов, обитающих в них, так и их биоактивных метаболитов, способных найти широкое применение в фармацевтике, медицине, сельском хозяйстве [3–6].

Учитывая, что эндофит обладает теми же свойствами, что и растение-хозяин, поиск уникальных эндофитных грибов является весьма актуальным.

Нами проведены исследования по выделению эндофитных грибов из лекарственных растений, относящихся к родам *Allium*, *Ariaceae*, *Arctium*, *Armoracia*, *Calendula*, *Celosia*, *Chelidonium*, *Crocus*, *Ephedra*, *Eremurus*, *Ferula*, *Glycyrrhiza*, *Haloxylon*, *Helianthus*, *Matricaria*, *Melissa*, *Mentha*, *Ocimum*, *Peganum*, *Rumex*, *Thymus*, *Tulipa*, *Vinca*, собранных на территории юго-западного Кызылкума, Ташкентской, Кашкадарьинской и Наманганской областей, предгорий Кураминского хребта, Чаткальского и Нуратинского заповедников.

В результате исследований нами из корней, стеблей, листьев, цветов, клубней выделено более 200 штаммов эндофитных грибов с различными биологически активными свойствами. Наибольшее количество изолятов было выделено из листьев растений.

Необходимо отметить штаммы, выделенные впервые в условиях Узбекистана. Это эндофитные грибы:

Fusarium culmorum — MP11R, *Dichotomyces cejpji* — MO45S, *Thielavia microspora* — MO46L, *Sclerotium minorum* — VM83R, *Penicillium lilacinum* — VM86S, *Penicillium concavoradulozum* — VE89L, *Cladosporium cladosporioides* — VE92L, *Penicillium syriacum* — VE93R, *Eupenicillium brefeldianum* — VE97R, *Aspergillus amstelodami* — VR177L, *Acremonium coremioides* — FF79S, *Ulocladium consortiae* — A87S, *Microascus trigonosporus* — PG126L, *Alternaria geophila* — HP133L, *Penicillium radulatum* — AF105, *Penicillium Waksmani Zaleski* — AF106, *Alternaria tenuis* — AF180, *Cladosporium tenussimum* — AF183, *Aspergillus spectabilis* — AL184, *Aspergillus egypticus* — HT166S, *Doratomyces purpureofuscus* — HT182, *Nigrospora sphaerica* — HT189L, *Myrothecium verrucaria* — HT190R. Большинство эндофитов было выделено из растений заповедников и пустынной зоны Кызылкума.

Предварительное изучение биопотенциала, среди выделенных впервые эндофитов, позволило отобрать культуры с высокой антикоагулянтной (*F. culmorum* — MP11R), антимикробной (*T. microspora* — MO46L, *P. Waksmani Zaleski* — AF106), цитотоксической (*P. lilacinum* — VM86S, *C. cladosporioides* — VE92L, *P. syriacum* — VE93R, *E. brefeldianum* — VE97R), активностями, а также, продуценты липидов (*S. minorum* — VM83R), меланинов (*C. tenussimum* — AF183), винка-алкалоидов (*P. concavoradulozum* — VE89L, *A. amstelodami* — VR177L) ингибиторов панкреатической амилазы (*A. egypticus* — HT166S).

Таким образом, предварительный скрининг некоторых лекарственных растений различных регионов республики по эндофитному составу грибов, показал наличие биологического разнообразия и высокого потенциала для перспективного использования свойств

вновь выделенных культур в медицине и фарминдустрии.

Список литературы

1. Keusgen M., Fritsch R.M., Hisoriev H., Kurbonova P.A., Khassanov F.O. Wild *Allium* species (*Alliaceae*) used in folk medicine of Tajikistan and Uzbekistan. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2006, 2:18.
2. Malcolm J.R., Liu C., Neilson R.P., Hansen L., Hannah L. Global warming and extinctions of endemic species from biodiversity hotspots. *Conserv. Biol.*, 2006, 20:538–548.
3. Selim K. A., El-Beih A. A., AbdEl-Rahman T. M., El-Diwany A. I. “Biodiversity and antimicrobial activity of endophytes associated with Egyptian medicinal plants,” *Mycosphere*, vol. 2, no. 6, pp. 669–678, 2011.
4. Cui J.L., Guo S.X., Xiao P.G. Antitumor and antimicrobial activities of endophytic fungi from medicinal parts of *Aquilaria sinensis*. *J. Zhejiang Univ-Sci B (Biomed and Biotechnol)*, 2011, 12(5):385–392.
5. Wang F. W., Jiao R. H., Cheng A. B., Tan S. H., Song Y. C. “Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium* sp.” *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 23, no. 1, pp. 79–83, 2007.
6. Yu H., Zhang L., Li L., Zheng C., Guo L., Li W. et al. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research* 165, 2010, 437–449.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 8

Volume 8

Выпуск 3.

**Сельскохозяйственная
микология**

Issue 3.

Fungal problems in agriculture

Глава 8.

**Грибковые болезни и защита
растений. Фунгициды**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.08

Chapter 8.

**Fungal disease and crop protection.
Fungicides**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.08

Глава 9.

**Фитопатогенные грибы
сельскохозяйственных культур**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.09

Chapter 9.

**Phytopathogenic fungi on crops and
fruit**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.09

Глава 10.

**Взаимоотношения грибов,
бактерий и растений. Микорриза**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.10

Chapter 10.

**Fungal relations to bacteria
and plants. Mycorrhiza**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.10

Содержание выпуска 4

Глава 9. Фитопатогенные грибы сельскохозяйственных культур

СПОСОБНОСТЬ К ПРОЯВЛЕНИЮ АГРЕССИВНОСТИ <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i> ПРИ ИНОКУЛИРОВАНИИ КЛУБНЕВЫХ ДИСКОВ Адамов А.А., Жигачев О.А., Васильченко В.В., Смирнов А.А.	253
ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОМИЦЕТОВ РОДА <i>FUSARIUM</i> — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ УВЯДАНИЯ СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ Акосах Й.А., Марданова А.М.	255
ПРОТОИЛУДАНОВЫЕ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫЕ АРИЛЬНЫЕ ЭФИРЫ И ФИТОПАТОГЕННОСТЬ ГРИБОВ <i>ARMILLARIA MELLEAE SENSU LATO</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ЮЖНОЙ СИБИРИ Желифонова В.П., Антипова Т.В., Литовка Ю.А., Павлов И.Н., Баскунов Б.П., Козловский А.Г.	257
ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МУЧНИСТОЙ РОСЫ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБРАБОТКЕ СОЛЕВЫМ РАСТВОРОМ Аветисян Г.А., Аветисян Т.В.	259
ВИРУЛЕНТНОСТЬ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ <i>PUCCINIA GRAMINIS F. SP. TRITICI</i> В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В 2016–2019 ГГ. Баранова О.А., Созина И.Д., Соляникова В.В.	260
КОМПЛЕКС ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КЛУБНЯМИ КАРТОФЕЛЯ Белосохов А.Ф., Миславский С.М., Ярмеева М.М., Еланский С.Н.	262
РЖАВЧИНА ЗЛАКОВ НА ТЕРРИТОРИИ ЗБС МГУ Благовещенская Е.Ю.	263
АДВЕНТИВНЫЙ ДЛЯ СРЕДНЕЙ РОССИИ КРЕСТОВНИК <i>SENECIO DUBITABILIS</i> — НОВЫЙ ХОЗЯИН РЖАВЧИННОГО ГРИБА <i>COLEOSPORIUM TUSSILAGINIS SENSU LATO</i> Бочков Д.А.	264
МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРИБОВ РОДА <i>COCHLIOBOLUS (HELMINTHOSPORIUM)</i> , ПОРАЖАЮЩИХ КУКУРУЗУ И ПШЕНИЦУ Дудченко И.П., Скрипка О.В., Уварова Д.А., Копина М.Б., Тихонова К.О.	265
ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРИАбельНОСТИ ГЕНА БЕТА-ТУБУЛИНА И УСТОЙЧИВОСТИ К ТИАБЕНДАЗОЛУ ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА <i>HELMINTHOSPORIUM SOLANI</i> Еланский С.Н., Кутузова И.А., Чудинова Е.М.	266
МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ <i>THIELAVIOPSIS BASICOLA (BERK. & BROOME) FERRARIS</i> ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧЕРНОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ХЛОПЧАТНИКА НА ЮГЕ УЗБЕКИСТАНА Глухова Л.А., Курбонов А., Автономов В.	267
ФОМОИДНЫЕ ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАСТЕНИЯМИ СЕМЕЙСТВА <i>CONVOLVULACEAE</i> Гомжина М.М., Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Ганнибал Ф.Б.	269
ДЕЙСТВИЕ СТРОБИЛУРИНОВ НА ФИТОПАТОГЕНЫ Гришечкина Л.Д.	270
АНТАГОНИСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ РИЗОСФЕРНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К ФИТОПАТОГЕННЫМ МИКРОМЕЦЕТАМ Иткина Д.Л., Сулейманова А.Д.	271
ЭНДОФИТНЫЕ ДРОЖЖИ В СОЧНЫХ ПЛОДАХ <i>MALUS DOMESTICA</i> Качалкин А.В., Глушакова А.М., Венжик А.С.	273
ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ РОДА <i>ALTERNARIA</i> НА НАКОПЛЕНИЕ СВОБОДНОГО ПРОЛИНА В РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ Кинчарова М.Н.	275
ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОМИЦЕТОВ СВЯЗАННЫХ С ЧЕРНИКОЙ ОБЫКНОВЕННОЙ НА СЕВЕРЕ ЕРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ Копина М.Б., Сурина Т.А., Уварова Д.А.	276
ФУЗИКОКЦИН А: ЕГО ПОЛУЧЕНИЕ И ДЕЙСТВИЕ В ОТНОШЕНИИ РАСТЕНИЙ, ГРИБОВ И ЖИВОТНЫХ Краснопольская Л.М.	278
ВЛИЯНИЕ ГЛОБАЛЬНОГО ПОТЕПЛЕНИЯ НА ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ Левитин М.М.	279
КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГРИБОВ РОДА <i>HERICIUM</i> Ломберг М. Л.	280
МИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОСНОВНЫХ ВИДОВ СУХОФРУКТОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ НА РЫНКЕ РФ Минаева Л.П., Полянина А.С., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А.	282

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ <i>HELIANTHUS TUBEROSUS</i> И <i>CELOSIA CRISTATA</i> НА ИНГИБИТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ <i>A. EGYPTICUS-HT166S</i> И <i>P. BREVICAULE ALBA-CC200</i> Мухаммедов И.И., Абдульмянова Л.И., Каримова Ф.А., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г.	284
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РАЗВИТИЕ ГРИБА <i>CLADOSPORIUM CUCUMERINUM</i> , ВОЗБУДИТЕЛЯ ОЛИВКОВОЙ ПЯТНИСТОСТИ <i>IN VITRO</i> И НА РАСТЕНИЯХ ОГУРЦА Пасечник Т.Д.	285
ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ МИЦЕЛИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ <i>P. FUSARIUM</i> И <i>MYRENOPIHORA</i> ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С БИОКОНТРОЛЬНЫМИ ШТАММАМИ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> Павлова М.Д., Асатурова А.М.	286
РОСТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МИКОПЕСТИЦИДОВ Павлова Н.А., Чернакова Д.А., Фролова Г.М., Сокорнова С.В.	287
ФИТОПАТОГЕННЫЙ КОМПЛЕКС ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Петрова Н.Г., Долженко В.И.	288
ОСОБЕННОСТИ МЕЖВИДОВЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ <i>SARCODONTIA CROCEA</i> И ПОТЕНЦИАЛЬНО КОНКУРЕНТНЫХ КСИЛОТРОФНЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В УСЛОВИЯХ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ Шахова Н.В., Волобуев С.В.	290
ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В ПОЧВЕ СВЕКЛОВИЧНОГО АГРОЦЕНОЗА Шамин А.А., Стогниенко О.И.	293
СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ МАРКЕРАМ Шайдаюк Е.Л.	295
ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ <i>PUCCINIA TRITICINA</i> НА ЮЖНОМ УРАЛЕ Шрейдер Е.Р., Гульгяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Кушниренко И.Ю.	298
ПРИЧИНЫ ЗАРАЖЕНИЯ ЗЕРНОВЫХ ТОКСИНООБРАЗУЮЩИМИ МИКРОМИЦЕТАМИ И ЗАГРЯЗНЕНИЯ ИХ МИКОТОКСИНАМИ Солдатенко Н.А., Дробин Ю.Д., Коваленко А.В., Бокун Е.А.	300
СОПРЯЖЕННОСТЬ МИКОБИОТЫ МИНИРУЮЩИХ ФИТОФАГОВ И ФИТОПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТЫ САХАР- НОЙ СВЕКЛЫ Стогниенко Е.С., Стогниенко О.И., Мелькумова Е.А.	301
РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ РОДА <i>COLLETOTRICHUM</i> НА ПЛОДОВО-ЯГОДНЫХ КУЛЬТУРАХ Цветкова Ю.В., Чудинова Е.М., Еланский С.Н.	302
ПРОЯВЛЕНИЕ АГРЕССИВНОСТИ <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i> НА ЛИСТЬЯХ ПЕЛАРГОНИИ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ Васильченко В.В.	304
ПАТОГЕННЫЕ И ФИТОТОКСИЧНЫЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ <i>VIPOLARIS SOROKINIANA (SACC.) SHOEM</i> — ВОЗБУДИТЕЛЯ ГЕЛЬМИНТОСПОРИОЗНОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ФГБНУ ВНИИФ Жемчужина Н.С., Киселева М.И., Елизарова С.А., Лапина В.В.	306

Глава 10. Грибковые болезни и защита растений. Фунгициды

КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ <i>PLASMOPARA VITICOLA</i> НА ВИНОГРАДЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ФУНГИЦИДА СИЛАР, ВР Мухаммедов И.И., Абдульмянова Л.И., Каримова Ф.А., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г.	309
ИДЕНТИФИКАЦИЯ <i>MASROPNOMINA PHASEOLINA</i> В КОМПЛЕКСЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ. СКРИНИНГ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЕЕ КОНТРОЛЯ Аршава Н.В., Башкатова М.Н., Божко К.Н., Желтова Е.В., Каракотов С.Д.	311
ГРИБНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО В ЛЕСОСТЕПИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ Ашмарина Л.Ф.	312
МЕТОД ОЦЕНКИ ЗАРАЖЕННОСТИ ЗЕРНОВОК ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ ФИТОПАТОГЕННЫМИ ГРИБАМИ Е.В. Байбакова, Е.Э. Нефедьева	314
ПРОДУКТИВНОСТЬ СОИ СЕВЕРНОГО ЭКОТИПА СОРТА СВЕТЛАЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОРАЖЕНИЯ ПЕРОНОСПОРОЗОМ В УСЛОВИЯХ КАЛУЖСКОЙ ОБЛАСТИ Демьяненко Е.В.	317
ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ ФИТОФТОРОЗА И АЛЬТЕРНАРИОЗА Денисенков И.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина Т.И., Кузнецова М.А.	318
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОФУНГИЦИДОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ РАЗВИТИЯ	

ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПЛЕСНЕВИДНЫХ ГНИЛЕЙ ВИНОГРАДА Галкина Е.С., Болотянская Е.А.	321
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО МИКОЛОГИИ И ФИТОПАТОЛОГИИ В НОВО-АЛЕКСАНДРИЙСКОМ ИНСТИТУТЕ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ЛЕСОВОДСТВА Гамалея В.Н., Рудая С.П.	323
ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОАЛМАЗОВ И МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВРОДА <i>TRICHODERMA</i> НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ <i>AVENA SATIVA</i> Голованова Т.И., Иванова А.Н.	325
ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПРЕПАРАТА АЛИРИН-Б В БОРЬБЕ С АЛЬТЕРНАРИОЗОМ ТОМАТА Грошева Е.В., Маслова М.В., Будаговский А.В., Будаговская О.Н.	326
К ВОПРОСУ ПОИСКА И ИДЕНТИФИКАЦИИ ХИЩНЫХ ГРИБОВ ГИФОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ ЮЖНОГО КАЗАХСТАНА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ФИТОПАЗИТИЧЕСКИХ НЕМАТОД Каналбек Г.К., Акильбекова А., Фалеев Д.Г., Богуспаев К.К.	328
ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ЯЧМЕНЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ <i>COCHLIOBOLUS SATIVUS</i> ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ Колоколова Н.Н., Боме Н.А., Тетянников Н.В., Вайсфельд Л.И.	330
ПЕРОНОСПОРОЗ ЯРОВОГО РАПСА В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗЬ С ПОГОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИМИ УСЛОВИЯМИ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА Коробейников А.С.	331
КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ГРИБОВ <i>FUSARIUM SPP.</i> НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ТОМАТА Лупашку Г.А., Михня Н.И., Гавзер С.И.	333
ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ Лупашку Г.А., Гавзер С.И.	334
КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД В БОРЬБЕ С ФУЗАРИОЗОМ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР Маслова М.В., Грошева Е.В.	335
ФИТОСАНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА СЕМЯН СОРГО ЗЕРНОВОГО Матвиенко Е.В., Кинчарова, М.Н.	337
НОВЫЕ ВИДЫ МИКОПАТОГЕНОВ СЛИВЫ И ВИШНИ ЗАПАДНОГО ПРЕДКАВКАЗЬЯ Мищенко И.Г.	338
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТВОРА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ И БАКТЕРИЙ <i>KLEBSIELLA PLANTICOLA</i> НА ТОМАТАХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА ПРИ ПОДАВЛЕНИИ АЛЬТЕРНАРИОЗА Приходько Е.С. Смирнов А.Н.	340
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ФИТОСАНИТАРНОГО МОНИТОРИНГА ПОСЕВОВ МНОГОЛЕТНИХ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПОЛЕВЫХ ИСКУССТВЕННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ФОНОВ Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю.	342
УСИЛЕННЫЙ ИНФЕКЦИОННЫЙ ФОН В ОЦЕНКЕ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА СОСНЫ ВЕЙМУТОВОЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ПУЗЫРЧАТОЙ РЖАВЧИНЕ Ширнина Л.В., Мелькумова Е.А.	344
АНАЛИЗ ГРИБНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ТОМАТОВ ЮЖНЫХ РЕГИОНОВ РОССИИ Шкункова Т.А., Кивраки Д., Еланский С.Н., Чудинова Е.М.	346
ПОРАЖЕНИЕ ЯРОВОГО РАПСА АЛЬТЕРНАРИОЗОМ В ПОГОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ Шпанев А.М.	347
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ ПШЕНИЦЫ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ Сколотнева Е.С., Кельбин В.Н., Морозова Е.В.	348
ПОРАЖЕНИЕ КАРТОФЕЛЯ АЛЬТЕРНАРИОЗОМ НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ Смук В.В.	349
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФУНГИЦИДОВ ИЗ ГРУППЫ СТРОБИЛУРИНОВ И ТРИАЗОЛОВ В БОРЬБЕ С <i>CERCOSPORA BETICOLA</i> САХАРНОЙ СВЕКЛЫ НА ЮГЕ РОССИИ Таранчева О.В., Волкова Г.В.	350
ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ <i>METARHIZIUM ROBERTSII</i> И <i>BAEUVERIA BASSIANA</i> НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОЛОНИЗИРУЕМЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ Томилова О.Г., Ефимова М.В., Глупов В.В.	352
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ ПРОТИВ СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ (ВОЗБУДИТЕЛЬ <i>RYRENOPHORA TERES F. SP. TERES DRECHLER.</i>) В ФАЗУ ВСХОДОВ НА ЮГЕ РОССИИ Яхник Я.В., Таранчева О.В., Волкова Г.В.	354

Глава 9.

Фитопатогенные грибы сельскохозяйственных культур

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.09

СПОСОБНОСТЬ К ПРОЯВЛЕНИЮ АГРЕССИВНОСТИ *ALTERNARIA ALTERNATA* ПРИ ИНОКУЛИРОВАНИИ КЛУБНЕВЫХ ДИСКОВ

Адамов А.А., Жигачев О.А., Васильченко В.В., Смирнов А.А.

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

Картофелеводство в России — одна из ведущих отраслей, что указывает на важную роль культуры в международной торговле. Площадь возделывания картофеля в РФ составляет приблизительно 294,4 тыс. га, при этом с данной площади валовой сбор составляет приблизительно 5,4 млн. тонн, что является третью всемирного производства (по данным Министерства сельского хозяйства РФ за 2015 год). Несмотря на высокий валовой сбор, средняя урожайность картофеля в нашей стране находится на довольно низком уровне и равен приблизительно в 12,8 т/га[2]. Это несмотря на то, что заявленная потенциальная продуктивность многих сортов картофеля выше 50 т с гектара.

В основном это связано с вредителями и заболеваниями. Картофель может поражаться болезнями на всех этапах жизненного цикла: до появления всходов, во время вегетации и в период хранения [4]. Многие возбудители опасных болезней имеют особенность накапливаться и долго сохраняться в почве.

Одним из опаснейших заболеваний картофеля является альтернариоз. Он может снижать урожайность до 50%. В мире этот показатель составляет 5%.

У картофеля данная болезнь поражает стебли, клубни и листья[1, 3]. Некрозы на поверхности вызываются альтернариевой кислотой, которую выделяет грибок *Alternaria alternata*[5].

Производители сталкиваются с проблемой: 1) выращивать восприимчивые сорта с высокой урожайностью и проводить большое число обработок против альтернариоза или же 2) выращивать сорта с высокой полевой устойчивостью, но низкой урожайностью и плохими вкусовыми качествами, характеризующимися низкой устойчивостью к неблагоприятным факторам среды, поэтому на современном этапе одной из главных задач селекции является повышение адаптивного потенциала новых сортов. Только имея информацию о потенциальной продуктивности, адаптивности и стабильности сорта, его способности отзываться на улучшение условий выращивания, можно результативно использовать сорт при различных уровнях энергозатрат: в широком производстве, интенсивных технологиях, на приусадебных участках.

Но не всегда заявленные оригинатором характеристики о устойчивости сорта совпадают с реальной ситуацией в поле. Часто производитель сталкивается с проблемой по факту отсутствия устойчивости сорта в поле. Это особенно связано с выращиванием картофеля в благоприятных условиях для развития альтернариоза. Это проблема мирового масштаба, которой обеспокоены, как производители, так и фитопатологи. Такая легкая способность преодолевать устойчивость новых сортов у возбудителя альтернариоза, связана с усилением агрессивных свойств патогена. Взаимодействию сортовой устойчивости и агрессивных свойств патогена посвящена данная работа.

Материалы и методы

Для испытаний выбрали 5 сортов картофеля, используемых в современных условиях и отличающихся друг от друга по ряду своих характеристик:

- Удача (умеренно устойчив);
- Никулинский (умеренно устойчив);
- Сантэ (устойчив);
- Аврора (умеренно восприимчив);
- Фаворит (умеренно устойчив).

Агрессивность — мультифакторный многокомпонентный признак, включающий в себя краткосрочную жизнеспособность и потенциальную вредоносность для картофеля.

В эксперименте заражали клубневые диски (разрез клубня толщиной от 0,5–0,8 см с перидермой). Инокулом патогена для инокулирования клубневых дисков делали из смыва культуры патогена с чашек Петри. Концентрацию суспензии для заражения проверяли с помощью гемцитометра. Доводили ее до 20 000 конидий/мл воды для *A. alternata*. Далее суспензии разбавляли и инокуляцию производили в концентрациях: 1(max)–1/2–1/4–1/8–1/16.

При заражении конидиями *A. alternata* инокулирование клубневых дисков производили незамедлительно.

Далее клубневые диски или листья инкубировали от 5 суток до 12 суток при температуре около 20–21 °С.

На протяжении инокуляции определяли основные компоненты агрессивности. Затем их усредняли и далее в каждом из вариантов определяли итоговый индекс

агрессивности. Для подсчета итогового индекса агрессивности определяли в течение инокуляции:

1. Размер некроза (РН). Определяли в баллах: 1 — до 10% поверхности клубня подвержено некротизации; 2 — от 11 до 30% поверхности клубня подвержено некротизации; 3 — от 31 до 60% поверхности клубня подвержено некротизации; 4 — от 61 до 90% поверхности клубня подвержено некротизации; 5 — от 91 до 100% поверхности клубня подвержено некротизации. Оценивали визуальным методом.

2. Интенсивность спороношения (ИС). Определяли в баллах: 1 — до 10% поверхности клубня покрыто спороношением; 2 — от 11 до 30% покрыто поверхностью клубня спороношением; 3 — от 31 до 60% клубня покрыто спороношением; 4 — от 61 до 90% поверхности клубней покрыто спороношением; 5 — от 91 до 100% поверхности клубня покрыто спороношением. Оценивали визуальным методом.

3. Инкубационный период (ИН). Это период от заражения до появления признаков фитофтороза. Измеряется в днях. Фиксировали для каждой повторности варианта и усредняли.

4. Латентный период или период споруляции (ЛП). Это период от заражения до появления мицелия. Измеряется в днях. Фиксировали для каждой повторности варианта и усредняли.

После определения и усреднения полученных данных по вариантам подсчитывали итоговый индекс агрессивности (ИИА) по формуле:

$$\text{ИИА} = (\text{РН} \times \text{ИС}) / (\text{ИП} \times \text{ЛП})$$

Всего 25 вариантов опыта в четырехкратной повторности. Статистический анализ проводили, как



Рисунок — Инокулирование сорта Никулинский конидиями *alternata* на 5 суток

дисперсионный двухфакторный анализ. Оценивали факторы: сорт (фактор А) и концентрацию пропагул патогена (фактор В). Решающим фактором выбрали сортовую устойчивость

Результаты и их обсуждение

Данные по интегральным показателям агрессивности и статический анализ *A. alternata*, на клубневых дисках картофеля разных сортов представлены в Таблице.

В результате полученных данных было установлено, что наименьший индекс агрессивности присутствовал при заражении устойчивого сорта Никулинский и Удача конидиями *A. alternata* во всех концентрациях (рисунок). Показатель агрессивности у этих двух сортов был близок во всех концентрациях.

Наибольший индекс агрессивности был при заражении сорта Сантэ инфекционными структурами *A. alternata* в максимальной концентрации. В целом отмечено, что у данного сорта почти во всех концентрациях ИИА был выше, чем у других сортов.

Сорт Аврора показал довольно высокие ИИА близкие к Сантэ. Причем в сниженных концентрациях ИИА были выше, чем у Сантэ.

Сорт Фаворит показал средние ИИА во всех вариантах, что подтвердило заявленные характеристики по клубневой устойчивости.

По данным статистического анализа опыт имеет различия по всем вариантам и их взаимодействиям. Данные также представлены в таблице.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что в наименьшей степени агрессивность *A. alternata* проявлялась на клубневых дисках сорта Удача и Никулинский и практически всегда этот показатель был ниже по сравнению с другими сортами, что доказывает заявленную оригинатором умеренную устойчивость к патогену. Наибольшее заражение клубневых дисков наблюдали в максимальных концентрациях инокулята возбудителя. Максимальное поражение клубневых дисков именно конидиями *A. Alternata* наблюдалось у сортов Сантэ (в больших концентрациях) и Аврора (в меньших концентрациях), что позволяет нам говорить про разную сортовую устойчивость при различных разведениях

Таблица — Средние значения итогового индекса агрессивности при инокуляции клубневых дисков в различных вариантах

Сорт картофеля (фактор А)	ИИА при различных разведениях (фактор В)					Среднее ИИА по фактору А
	max (B ₁)	1/2 (B ₂)	1/4 (B ₃)	1/8 (B ₄)	1/16 (B ₅)	
Удача (A1)	0,11	0,05	0,05	0,04	0,02	0,054
Никулинский (A2)	0,1	0,03	0,03	0,03	0,01	0,04
Фаворит (A3)	0,19	0,19	0,16	0,03	0,01	0,14
Сантэ (A4)	1,57	1,13	0,59	0,29	0,4	0,8
Аврора (A5)	1,45	0,86	0,86	0,51	0,2	0,78
Средние ИИА по фактору В	0,68	0,45	0,34	0,18	0,16	
НСР		F _{фак}	F ₀₅		Различия	
По фактору А = 0,16		43,8	2,5		Существенные	
По фактору В = 0,16		18,1	2,5		Существенные	
По взаимодействию АВ = 0,16		5	2,74		Существенные	
НСР ₀₅ для частных различий = 0,36						

инокулюма. Что может представлять значительный интерес и позволяет по-новому оценивать вклад возбудителя альтернариоза в поражение картофеля и фитосанитарную обстановку в целом.

Список литературы

1. Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. — СПб: ВИЗР, 2011. — 71 с.
2. Картофель России / Под ред. А.В. Коршунова, — М.: Достижения АПК, 2003. — 968 с.
3. Постников А.Н., Картофель. 2-е изд., перераб. и доп./ Постников А.Н., Постников Д.А. — М.: 2006. — 160 с.
4. Посыпанов, Г.С. Растениеводство/ Г.С. Посыпанов [и др.] — М.: КолосС, 2007. — 612 с.
5. Смирнов А. Н., Бибик Т. С., Приходько Е. С., Белошапкина О. О., Кузнецов С. А. Листостебельный комплекс фитопатогенных и сопутствующих грибов в агроценозах картофеля и томата различных регионов России. — Известия ТСХА, 2015. — Вып. 3. — С. 36–46.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *FUSARIUM* — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ УВЯДАНИЯ И СУХОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ

Акосах Й.А., Марданова А.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии

Повышенное инфицирование фитопатогенными грибами является важной причиной потери урожая и производственных затрат [1]. В последние годы распространенность фузариозного увядания (ФУ) и сухой гнили картофеля стремительно растет в разных регионах европейской части России, включая Среднее Поволжье [2,3]. Хотя установлено, что существует сильная положительная корреляция между интенсивностью засухи и высокой частотой ФУ [4], данные об этиологии фузариоза картофеля в Республике Татарстан (РТ) практически отсутствуют [5]. Согласно нашим результатам по анализу микробиоты корней картофеля, культивируемого в РТ на серых лесных почвах, ризосфера и ризоплана картофеля одинаково обогащены представителями рода *Fusarium*, доля которых составляет около 10% от всего грибного сообщества корневой зоны [6].

Большинство исследований по этиологии фузариоза картофеля посвящены анализу микромицетов, выделенных из пораженных клубней. Очень мало известно о штаммах *Fusarium* — возбудителях ФУ, обитающих в сосудах растения картофеля, а также отсутствуют данные об их роли в патогенезе сухой гнили клубней. Целью настоящей работы была характеристика изолятов *Fusarium*, выделенных из тканей картофеля с признаками сосудистого увядания, и установление роли этих штаммов в возникновении сухой гнили при искусственном инфицировании клубней разных сортов картофеля.

Экспериментальная часть

Объектом исследования были изоляты *Fusarium* spp., выделенные из корневой шейки растений картофеля с признаками ФУ. Для выделения микромицетов использовали среду Чапека-Докса. Посевы культивировали при комнатной температуре. Идентификацию изолятов проводили с помощью морфологических исследований и секвенирования региона ITS (internal transcribed spacer, внутренний транскрибируемый спейсер) гена 5.8S рРНК. Сиквенсы анализировали в программе BLASTn с помощью базы данных NCBI. Для

оценки восприимчивости к фузариозной сухой гнили использовали по 10 условно-здоровых клубней сортов Жуковский ранний, Регги и Ред Скарлетт, которые искусственно инокулировали спорами (10^6 спор/мл) микромицетов и затем инкубировали при 28 °С. Способность изолята поражать клубни оценивали на 21 день по доле пораженной ткани клубня с помощью 9-балльной шкалы: где 9 — отсутствие поражения ткани клубня, а 7, 5, 3 и 1 соответствуют поражению 1–20%, 30–40%, 50–60% и 60–100% ткани клубня соответственно. Индексы устойчивости сортов (C_{RI}) к изолятам были рассчитаны по формуле:

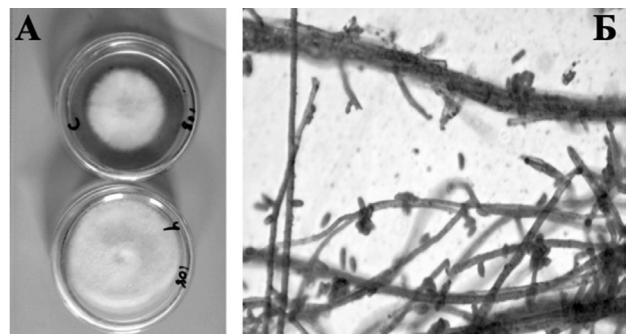
$$C_{RI} = (\Sigma T_H - \Sigma T_A) / \Sigma T_H,$$

где T_H и T_A — оценки здоровых и пораженных клубней для данного конкретного сорта соответственно.

Результаты и обсуждение

Из корневых шеек растений картофеля с признаками сосудистого увядания были выделены 14 изолятов

Рисунок 1 — Морфологическая характеристика изолятов *Fusarium* spp. Рост воздушного мицелия изолятов на среде Чапека после 7 дней инкубации (А). Визуализация изолята под оптическим микроскопом (Б). Наличие веретенообразных и серповидных макроконидий, а также яйцевидных и изогнутых микроконидий подтверждает принадлежность к роду *Fusarium*

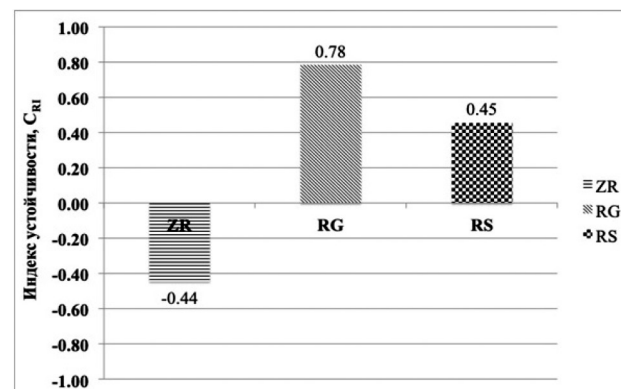


с характерной морфологией, которым были присвоены номера АМ1-АМ14. Для каждого штамма проводили морфологическую характеристику. Появление беловатого хлопкового воздушного мицелия на среде Чапека с наличием веретенообразных и серповидных макроконидий, а также яйцевидных и изогнутых микроконидий указывало на возможную принадлежность этих микромицетов к роду *Fusarium* (рис. 1).

Данные секвенирования ITS регионов генов 5.8S рРНК показали 97%–100% гомологию среди протестированных изолятов. По полученным данным один из выделенных изолятов (АМ9) был идентифицирован как штамм *Fusarium solani*, а остальные 13 — штаммы *Fusarium oxysporum*. Эти результаты согласуются с нашими предыдущими исследованиями, согласно которым именно представители *F. oxysporum* являются основной причиной сухой гнили и латентной инфекции в клубнях картофеля, выращенного в РТ [3]. Более того, наши результаты согласуются с данными исследований, проведенных в Польше и Северном Китае, в которых также установлено, что штаммы *F. oxysporum* являлись самыми распространенными возбудителями фузариоза картофеля [7,8].

Для оценки устойчивости разных сортов картофеля к сухой гнили клубни были инокулированы чистыми культурами исследуемых микромицетов, степень поражения которых оценивали через 21 сут. Наличие некроза светло-коричневого или черного цвета во внутренних тканях клубней свидетельствовало о наличии симптомов сухой гнили. В некоторых случаях на пораженном участке наблюдали рост мицелия в виде беловатого пушистого налета. В контрольных клубнях, в которые инокулировали физиологический раствор вместо спор, не выявили визуальных признаков сухой гнили. Степень поражения клубней заметно различалась среди протестированных сортов и изолятов *Fusarium* (Таблица 1). Сравнение средних показателей целостности ткани клубня показало, что изоляты АМ2, АМ7, АМ8 и АМ9 проявляют патогенность по отношению ко всем трем сортам картофеля. В клубнях, ино-

кулированных изолятами АМ3, АМ4, АМ5 и АМ6, не выявили признаков сухой гнили после 21 дня инкубации (таблица).



кулированных изолятами АМ3, АМ4, АМ5 и АМ6, не выявили признаков сухой гнили после 21 дня инкубации (таблица).

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа установили, что восприимчивость клубней к фузариозной инфекции значительно зависит от сорта ($F_{[2,26]} = 3,765$, $P = 0,04$), а также штамма *Fusarium* ($F_{[13,26]} = 2,296$, $P = 0,03$). Наивысший индекс устойчивости (0,78) проявил сорт Регги, тогда как Жуковский ранний оказался чрезвычайно чувствительным к тестируемому изолятам фузариумов и имел отрицательный индекс устойчивости $-0,44$ (рис. 2).

Вирулентность любого изолята микроорганизма зависит от широкого спектра внешних и внутренних факторов. Известно, что представители рода *Fusarium* характеризуются высокой гетерогенностью и видоспецифичностью по отношению к растению-хозяину и обладают сложными механизмами патогенности [9,10]. Отсутствие способности вызывать сухую гниль у не-

Таблица — Оценка пораженной ткани клубня по 9-балльной шкале

Изолят	Сорт картофеля		
	Жуковский ранний	Регги	Ред скарлетт
АМ 1	8,60 ± 0,84	9,00*	9,00*
АМ 2	6,20 ± 1,03	8,20 ± 1,69	7,40 ± 2,07
АМ 3	9,00*	9,00*	9,00*
АМ 4	9,00*	9,00*	9,00*
АМ 5	9,00*	9,00*	9,00*
АМ 6	9,00*	9,00*	9,00*
АМ 7	4,60 ± 2,07	7,00 ± 2,67	5,00 ± 2,67
АМ 8	1,20 ± 0,63	4,60 ± 2,80	6,20 ± 1,93
АМ 9	6,60 ± 2,27	7,80 ± 1,69	7,40 ± 2,27
АМ 10	9,00*	8,20 ± 1,32	5,40 ± 2,8
АМ 11	2,20 ± 1,69	9,00*	7,40 ± 2,27
АМ 12	7,00 ± 0,94	9,00*	3,40 ± 1,58
АМ 13	1,80 ± 1,40	7,40 ± 2,07	9,00*
АМ 14	5,80 ± 1,69	9,00*	3,80 ± 2,70

Примечание. 9,00* — отсутствие симптомов сухой гнили

которых изолятов *Fusarium*, выделенных из растений с признаками сосудистого увядания, предполагает либо низкую адаптацию этих штаммов к клубням проверенных сортов картофеля, либо свидетельствует о том, что эти изоляты могут действовать в качестве симбиотрофов, комменсалов или даже почвенных сапрофитов. Расширение спектра тестируемых сортов картофеля важно для получения более полной картины специфичности изучаемых изолятов *F. oxysporum* к растению-хозяину.

Заключение

Полученные данные могут быть полезны при селекции клонов картофеля для культивирования на территории РТ и, возможно, в других регионах России с аналогичным типом почвы. Результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что на территории РТ основным возбудителем ФУ картофеля является *F. oxysporum*. Сорт Жуковский ранний, широко культивируемый в Российской Федерации, демонстрирует высокую чувствительность к *Fusarium*. Было подтверждено, что возникновение сухой гнили клубней при искусственной инокуляции спор *Fusarium* зависит как от вирулентности патогена, так и сорта растения. Также установлено, что не все изоляты, обитающие в окклюзированных сосудах картофеля, способны вызывать сухую гниль в клубнях.

Список литературы

1. Wilson W, Dahl B, Njanje W. Economic costs of fusarium head blight, scab and deoxynivalenol // World Mycotoxin J. 2018. Vol. 7, № 2. P. 291–302.
2. Замалиева, Ф.Ф., Тагиров, М.Ш., Зайцева, Т.В., Рыжих, Л.Ю. Эпифитотия фузариозного увядания на картофеле в Среднем Поволжье // Нива Татарстана. 2015. № 1. P. 21–24.

3. Хадиева Г.Ф. Лутфуллин, М. Т., Акосах, Й. А. и соавт. Анализ микромицетов рода *Fusarium*, изолированных из инфицированных клубней картофеля, выращенных в Республике Татарстан // Достижения науки и техники АПК. ООО «Редакция журнала «Достижения науки и техники АПК», 2018. Vol. 32, № 3.
4. Замалиева, Ф.Ф., Зайцева, Т.В., Рыжих, Л.Ю. and Салихова, З.З. Фузариозное увядание картофеля и рекомендации по защите // Защита картофеля. 2015. № 2. P. 3–9.
5. Nabieva L.G., Davletshina L.M. Return on Investments in the Formation of Fixed Capital Assets in Agriculture of The Republic of Tatarstan // Procedia Econ. Financ. Elsevier, 2015. Vol. 24. P. 457–463
6. Mardanov A, Lutfullin M, Hadieva G, et al. Structure and variation of root-associated microbiomes of potato grown in alfisol // World J. Microbiol. Biotechnol. Springer, 2019. Vol. 35, № 12. P. 181.
7. Du M., Ren X., Sun Q., Wang Y., Zhang R. Characterization of *Fusarium* spp. causing potato dry rot in China and susceptibility evaluation of Chinese potato germplasm to the pathogen // Potato Res. Springer, 2012. Vol. 55, № 2. P. 175–184.
8. Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M., Śliwka J. Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland // Eur. J. Plant Pathol. Springer, 2016. Vol. 145, № 4. P. 871–884.
9. Garnica M., Nucci M. Epidemiology of fusariosis // Curr. Fungal Infect. Rep. 2013. Vol. 7, № 4. P. 301–305.
10. Ma L-J., Geiser D., Proctor R., Rooney A., et al. *Fusarium* pathogenomics. // Annu. Rev. Microbiol. 2013. Vol. 67. P. 399–416.

ПРОТОИЛУДАНОВЫЕ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫЕ АРИЛЬНЫЕ ЭФИРЫ И ФИТОПАТОГЕННОСТЬ ГРИБОВ *ARMILLARIA MELLEAE SENSU LATO*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ЮЖНОЙ СИБИРИ

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

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН — обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН»;

²Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН — обособленное подразделение ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»;

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

Базидиальные грибы рода *Armillaria* генетически адаптированы к симбиозу с растениями. Многие представители являются фитопатогенами и поражают широкий круг растений-хозяев, включая хвойные породы. Куртинное усыхание деревьев при воздействии этих грибов протекает стремительно и, как правило, без предварительного ослабления древостоя. В лесах Евразии широко распространены различные виды комплекса *Armillaria melleae* s. l. На территории Южной Сибири (Красноярский край, Хакасия и Тыва) встречаются виды *A. borealis* Marxm. & Korhonen, *A. calvescens* Bérubé & Dessur., *A. cepistipes* Velen., *A. gallica* Marxm. (син. *A. lutea* Gillet), *A. mellea* (Vahl) P. Kumm., *A. ostoyae* (Romagn.) Herink (син. *A. solidipes* Peck) и *A. sinapina* Bérubé & Dessur. Доминирующее положение в лесах

Красноярского края (на площади, ограниченной с севера 58° с. ш., с юга — 52° с. ш.) занимает вид *A. borealis* [1, 2].

Фитопатогенность грибов рода *Armillaria* связывают с наличием у них ферментных систем, активно разлагающих биополимеры древесины. Обсуждается также роль в патогенезе продуцируемых ими протоилудановых сесквитерпеновых арильных эфиров [3, 4]. Работы по изучению видовой принадлежности изолятов *Armillaria*, географического распространения, спектра синтезируемых метаболитов и их биологической активности единичны [3]. В связи с чем целью данной работы было изучение метаболома, токсигенности и фитопатогенности грибов комплекса *Armillaria melleae* s.

1., выделенных на территории Южной Сибири в 2013–2018 годах.

Было исследовано 29 штаммов грибов *Armillaria* из коллекции чистых культур лаборатории лесных культур, микологии и фитопатологии Института леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). Видовая идентификация проведена в результате скрещивания моноспоровых культур с тестерами европейских и китайских видов с последующей молекулярно-генетической верификацией (секвенирование участков генетических маркеров ITS и TEF-1 alpha). Фитотоксичность и фитопатогенность исследовали стандартными методами [5], используя в качестве биотестов семена и проростки *Picea abies* (L.) Н. Karst. и *Abies sibirica* Ledeb. При изучении метаболома культивирование штаммов, выделение метаболитов и их идентификацию проводили, как описано ранее [6]. При идентификации метаболитов использовали данные УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии и сравнивали их с литературными источниками [4] и базами данных (<http://www.hmdb.ca/metabolites>; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

У 26 сибирских штаммов *Armillaria* из 29 исследованных было идентифицировано 15 вторичных метаболитов со схожей структурой: УФ-спектры характеризовались максимальным значением полос поглощения при 216, 263 и 302 нм, что указывало на наличие общего структурного ядра в молекулах в виде гидроксированного ароматического кольца. На основании молекулярных масс и их МС/МС спектров метаболиты были идентифицированы как протоиллуденовые сесквитерпеновые арильные эфиры – меллеолиды. Эти соединения представляют собой гибридную молекулу, которая состоит из двух структурных элементов, имеющих различное биосинтетическое происхождение [4]. Первый элемент состоит из C₁₅ трициклического ядра, который образуется из геранилдифосфата, универсального предшественника сесквитерпенов. Вторая часть молекулы меллеолидов содержит орселлиновую кислоту, которая является производным фенола и имеет поликетидное происхождение. Грибы рода *Armillaria* обладают уникальной способностью связывать эти два строительных блока посредством этерификации. Дальнейшее гидроксирование в различных положениях сесквитерпена, окисление первичного спирта при C–1 до альдегидной или карбоксильной групп, сдвиг или восстановление двойной связи циклогексена, образование метилового эфира при O–5' и хлорирование при C–6' орселинового кольца приводит к образованию более 70 различных структурных вариантов молекул [4–6]. У одного изолята гриба, как правило, присутствует не более 10 соединений и их состав у представителей одного вида может различаться [4].

Установлено, что у 26 сибирских штаммов видов *A. borealis*, *A. calvescens*, *A. gallica*, *A. mellea*, *A. ostoyae* и *A. sinapina* в профиле метаболома преобладали меллеолиды С, D и мелледонал С. Состав других меллеолидов не зависел от вида и варьировал в зависимости от штамма. Так 7 штаммов *A. borealis* помимо меллеолида D и мелледонала С образовывали меллеолид В, а 6 штаммов – его хлорпроизводное мелледонал В, при этом последние соединения преобладали в метаболоме. Отличительной особенностью штаммов *A. sinapina* является образование 5'-О-метилмелледонала, меллеолида В,

а также меллеолида Н, идентифицированного только у этого вида. Преобладающим соединением в метаболоме *A. calvescens* был мелледонол. Только у двух из пяти штаммов *A. gallica* и штамма *A. calvescens* были обнаружены меллеолиды L и M. Меллеолид D преобладал в метаболоме у всех штаммов *A. cepistipes*, но они также синтезировали меллеолид С. У штамма *A. ostoyae* А6 в профиле метаболома преобладал армилларинин. Продукция меллеолидов сибирскими штаммами *Armillaria* также варьировала и находилась в пределах от 2 до 239 мг/л.

Изучение фитотоксичности грибов рода *Armillaria* показало, что культуральная жидкость меллеолид-синтезирующих штаммов оказывала различное токсикогенное действие на семена и проростки *P. abies*. При незначительном снижении лабораторной всхожести (в среднем в 1.2 раза по сравнению с контролем) отмечено пролонгированное действие метаболитов на корневую систему. Так, длина главного корня и масса сухого проростка были меньше в 1.2–2.0 раза и 1.2–1.6 раза по сравнению с контролем соответственно. Начиная с 12–14-х сут вегетации, активно протекали некротические процессы более чем у 30 % тестируемых растений, приводящие к отмиранию корневой системы. Максимальная фитотоксичность отмечена у штамма *A. borealis* 74г с высокой продукцией меллеолидов. Фитотоксическая активность практически отсутствовала у штаммов *A. gallica* 6D, 22/12 и *A. ostoyae* 26D не синтезирующих меллеолиды в идентифицируемых количествах. Фитотоксическое действие *Armillaria* связывают с присутствием протоиллуденового ядра в структуре меллеолидов [3, 7]. Так, на листьях салата была показана фитотоксичность многих меллеолидов [7] и, в том числе, меллеолида D, 5 ϕ -О-метилмелледонала, армилларинина, идентифицированных нами и у сибирских штаммов.

Изучение фитопатогенности живых культур *Armillaria* на проростках и сеянцах хвойных позволило установить, что некоторые меллеолид-синтезирующие штаммы обладали более выраженными фитопатогенными свойствами. Максимальное снижение энергии прорастания и лабораторной всхожести семян *P. abies* в 1.7 раза, а также грунтовой всхожести семян *A. sibirica* в 1.5 раза наблюдали под действием штаммов *A. borealis* и *A. cepistipes*. Послевсходовая гибель сеянцев пихты под влиянием всех исследуемых культур *Armillaria* варьировало в пределах 32–56%, что в 1.6–2.8 раз превышало естественную гибель растений в контроле. Высокий летальный уровень более взрослых растений, по-видимому, обусловлен не только биосинтезом меллеолидов, но и другими факторами патогенности, поскольку массовую гибель сеянцев (до 47 %) наблюдали и в присутствии штаммов, не образующих метаболиты этой группы в значимых количествах.

Известно, что помимо фитотоксичности меллеолиды проявляют антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий [8, 9] и, некоторые из них, антифунгальную активность против возбудителей корневых гнилей [4, 10, 11]. Наличие гидроксильных групп при C–3, C–4 и C–13 протоиллуданового кольца и метокси группы при C–5' орселинового кольца усиливает их антибактериальные свойства [4]. Антифунгальная активность показана для меллеолидов, имеющих двойную связь между C–2 и C–4 ($\Delta^{2,4}$) протоиллуданового кольца

[4]. Из 15 идентифицированных у сибирских штаммов соединений, только арнамиол имеет такую связь. Это соединение синтезируют представители видов *A. borealis* A2, *A. cepistipes* A18, *A. gallica* A14 и *A. sinapina* A9. Следовательно, можно предположить, что антибактериальную и антифунгальную активность способны проявлять соответственно 26 и 4 сибирских штаммов *Armillaria*. Было высказано предположение об экологической роли этих соединений, сдерживающих развитие конкурентной микробиоты и предотвращающих колонизацию корней другими организмами [1].

Таким образом, у большинства исследуемых штаммов грибов комплекса *Armillaria mellea* s.l. были идентифицированы протоиллуденовые сесквитерпеновые арильные эфиры. Меллеолид-синтезирующие штаммы проявляли токсикогенное и фитопатогенное действие по отношению к семенам и сеянцам *P. abies* и *A. sibirica*. У штаммов, не синтезирующих меллеолиды в идентифицируемых количествах, фитотоксическая активность была очень низкой или отсутствовала. Это может свидетельствовать о наличии связи между способностью синтезировать протоиллуденовые сесквитерпеновые арильные эфиры изученными штаммами *Armillaria* и степенью их фитотоксичности.

Список литературы

1. Pavlov I.N. // Contemporary Problems of Ecology. 2015. Т. 8. № 4. С. 440–456.
2. Павлов И.Н., Литовка Ю.А., Литвинова Е.А. и соавт. // АгроЭкоИнфо. 2017. Т. 29. № 3. С. 18.
3. Baumgartner K., Coetzee M.P., Hoffmeister D. // Mol. Plant Pathol. 2011. V. 12. № 6. P. 515–534.
4. Dorfer M., Gressler M., Hoffmeister D. // Mycological Progress. 2019. V. 18. P. 1027–1037.
5. Maloy O.C. // Plant Dis. Reporter. 1974. № 58. P. 902–904.
6. Желифонова В.П., Антипова Т.В., Литвинова Е.А. и соавт. // Прикл. биохим. и микробиол. 2019. Т. 55. № 3. С. 277–283.
7. Bohnert M., Nutzmann H-W., Schroeckh V. et. al. // Phytochemistry. 2014. V. 105. № 1. P. 101–108.
8. Arnone A., Cardillo R., Nasini G. // Phytochemistry. 1986. V. 25. №2. P. 471–474.
9. Momose I., Sekizava R., Hosokawa N. and et. al. // J. Antibiotics. 2000. Vol. 53. № 2. P. 137–143.
10. Misiek M., Hoffmeister D. // Mycol. Progress. 2012. V. 11. № 1. P. 7–15.
11. Bohnert M., Nutzmann H-W., Schroeckh V. and et. al. // Phytochemistry. 2014. V. 105. № 9. P. 101–108.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МУЧНИСТОЙ РОСЫ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБРАБОТКЕ СОЛЕВЫМ РАСТВОРОМ

Аветисян Г.А., Аветисян Т.В.

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва

В природе растения постоянно подвергаются негативным воздействиям факторов окружающей среды (Cheeseman, 2006). Условия дефицита воды или засоления увеличивают вероятность развития ряда болезней растений (Осипова и др., 2019). Установлено, что существенная роль в ответной реакции растения принадлежит окислительным процессам, в частности, свободнорадикальным реакциям, связанным с участием кислородных радикалов и синглетного кислорода (Neill et al., 2002; Apel and Hirt, 2004).

Известно, конидии мучнистой росы образуются в большом количестве — за сутки до 25 тыс. на 1 см² пораженного листа. В течение вегетации может наблюдаться от 10 до 20 генераций патогена. Такая большая репродуктивная способность возбудителя при наличии благоприятных погодных условий обуславливает быстрое нарастание и широкое распространение болезни (Некласа, 2002).

Настоящее исследование предпринято для изучения влияния обработки солевым раствором на развитие возбудителя мучнистой росы пшеницы.

Растения мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. выращивали в рулонах из фильтровальной бумаги при температуре 18–20 °С. Растения в возрасте 2 недель инокулировали конидиями мучнистой росы *Blumeria graminis* (DC.) Speer. Для изучения влияния солевого раствора на развитие возбудителя мучнистой росы в тканях листьев пшеницы отделенные листья пророст-

ков помещали в чашки Петри с солевыми растворами в концентрации от 0 до 1 мМ. Контролем служили инфицированные листья, помещенные в чашки Петри с дистиллированной водой.

Для исследования под замораживающей приставкой (Deben UK, Великобритания) сканирующего электронного микроскопа (LEO-1430 VP, Carl Zeiss, Германия) использовали образцы листовой ткани без химической фиксации.

Изучение развития возбудителя мучнистой росы на растении пшеницы при искусственном заражении показало, что морфология и структура гриба *B. graminis* f. sp. *tritici* зависит от условий развития.

В нашей работе было обнаружено, что конидии патогена, попадая на поверхность эпидермальной ткани листьев пшеницы, плохо прорастали в соленой воде, но формировали ростковые трубки, которые имели небольшие размеры, и аппрессории не образовывались. Характеристики роста мучнисторосяного гриба при добавлении в среду концентраций 0,1 мМ и 0,2 мМ были аналогичными как у контрольных растений. При концентрации 0,4 мМ наблюдалось заметное отклонение в морфологии ростковых трубок мучнисторосяного гриба по сравнению с контролем. Прорастание конидий мучнисторосяного патогена на поверхности эпидермальной ткани пшеницы сопровождалось утолщением ростковых трубок гриба, мицелий не обнаружен. Необходимо отметить, что концентрации солево-

го раствора 0,6–1 мМ неблагоприятно влияли на общее состояние листьев пшеницы, вызывая анатомические разрушения.

Таким образом, с одной стороны, при обработке соленым раствором внедрения гриба в ткани растения не происходило, но, с другой стороны, наблюдалось одинаковое с контролем заражение конидиями.

Ранее нами отмечалось влияние окислительных процессов на взаимоотношения возбудителя мучнистой росы пшеницы и растения-хозяина (Аветисян и Аветисян, 2017). Цитологические исследования показали, что обработка прооксидантами зараженных листьев пшеницы приводила к появлению аномальных инфекционных структур и подавляла аппрессориальное развитие мучнисторосяного патогена.

Анализируя результаты проведенного исследования и сопоставляя их с полученными ранее, можно предположить, что в основе действия различных неблагоприятных факторов существует общий механизм, связанный с повышением уровня активных форм кислорода в тканях растения.

Список литературы

1. Cheeseman J.M. Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. P. 2435–2444.
2. Осипова Л.В., Верниченко И.В., Ромодина Л.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А. Устойчивость ярового ячменя к абиотическому стрессу в зависимости от уровня минерального питания и предобработки семян селеном и кремнием // Агрохимия. 2019. №7. С. 67–74.
3. Neill S. J., Desikan R., Clarke A., Hurst R. D., Hancock J. T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 1237–1247.
4. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. 2004. 55. P. 373–399.
5. Неклеса Н.П. Мучнистая роса зерновых культур. // Защита и карантин растений. 2002. №5. С. 46–47.
6. Аветисян Г.А., Аветисян Т.В. Аномалии ранних стадий развития *Erysiphe graminis tritici* при окислительном стрессе // Вестник МГУ. Серия 16. Биология. 2017. Т. 72. №2. С. 70–74.

ВИРУЛЕНТНОСТЬ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В 2016–2019 ГГ.

Баранова О.А., Созина И.Д., Соляникова В.В.

«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»
ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург, Пушкин

В последние годы наблюдается усиление вредоносности стеблевой ржавчины пшеницы (возбудитель — биотрофный гриб *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & Henning (Pgt)). С одной стороны сохраняется угроза заноса на территорию Российской Федерации высоковредоносной расы этого патогена — Ug99 (ТТКСК), с другой — в мире появились новые агрессивные расы гриба, отличные от Ug99, такие как раса ТККТГ, обнаруженная в странах Ближнего Востока и Европы (Lewis *et al.*, 2018), раса ТККТР, вирулентная к линиям с генами *Sr24*, *SrTmp* и *Sr1RSAmigo* (Olivera *et al.*, 2017) и раса ТТТТГ, поразившая несколько тысяч гектаров твердой пшеницы в Сицилии в 2016г. Это была крупнейшая за последние десятилетия вспышка стеблевой ржавчины в Европе. Раса ТТТТГ вирулентна к линиям с генами *Sr9e*, *Sr13* и авирулентна к *Sr31*, *Sr24* и *Sr25* (Bhattacharya, 2017). На территории Российской Федерации эпифитотийное развитие стеблевой ржавчины отмечалось в 2015, 2016, 2017 и 2018 годах в Западной Сибири и Нижнем Поволжье.

Целью настоящей работы был анализ саратовской популяции *P. graminis* f.sp. *tritici* 2016–2019 гг. по признаку вирулентности и расовому составу.

Были проанализированы популяции возбудителя стеблевой ржавчины, собранные в Лысогорском районе Саратовской области в 2016, 2017, 2018 и 2019 гг.; проанализирован расовый состав популяций патогена, и определены Sr-гены устойчивости пшеницы, эффективные к саратовской популяции Pgt.

Анализ признака вирулентности проводился по принятой методике (Jin *et al.*, 2007) с использованием набора 20 линий-дифференциаторов (North American differential set: *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr11*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr30*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr9b*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr38*, *SrMcN*) и 26 почти изогенных Sr линий: *Sr8b*, *Sr12*, *Sr13*, *Sr15*, *Sr20*, *Sr22*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr27*, *Sr28*, *Sr29*, *Sr32*, *Sr33*, *Sr35*, *Sr37*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr44*, *Sr26+Sr9g*, *Sr31+Sr36*, *Sr31+Sr24*, *Sr24+Sr36*, *Sr17+Sr13*, *Sr7a+Sr12*, *Sr7b+Sr18* и *SrWld*. Также были использованы сорта Аврора (*Sr31*) и Хакасская (восприимчивый контроль). Реакцию проростков линий-дифференциаторов на инокуляцию суспензией спор возбудителя стеблевой ржавчины (концентрация 1 мг/1 мл) учитывали на 10–12-ые сутки после заражения по стандартной шкале (Stakman *et al.*, 1962).

Было показано, что к лысогорской популяции патогена 2016 года устойчивы только линии, несущие гены *Sr26*, *Sr31*, *Sr32*, *Sr33*, и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr24+36*, *Sr26+9g*. К популяции патогена 2017 года эффективны гены *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr32*, и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr24+36*, *Sr26+9g*, *Sr17+13*, а к популяции патогена 2018 года — гены *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr32*, *Sr35* и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr24+36*, *Sr26+9g*. К популяции Pgt 2019 г. были эффективны гены *Sr13*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35* и сочетания генов *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr26+9g*. Из результатов анализа можно заключить, что ген *Sr31* пока сохраняет свою эффективность, также как *Sr26* сохранивший эффек-

Рисунок — Вирулентность саратовской популяции возбудителя стеблевой ржавчины



тивность с 2016 по 2019 г. Гены же *Sr32*, *Sr33* и *Sr24* к 2019 году утратили эффективность. Кроме того, в популяциях 2016–2019 гг. присутствовали патотипы гриба, вирулентные к линии с геном *Sr25*, что указывает на постепенную потерю эффективности данного гена на территории Поволжья.

На рисунке представлены результаты анализа вирулентности лысогогорской популяции *P. graminis* к Sr-линиям по годам (с 2016 по 2019). Наблюдается резкое увеличение изолятов гриба с геном *r30* (от 42% в 2016 году до 100% — в 2019). Также с высокой частотой встречались изоляты с геном вирулентности *r36*, причем в 2018 г. их частота достигала 100%. За все годы анализа в популяциях не выявлено изолятов, вирулентных к линии с геном *Sr31*. Изоляты, вирулентные к линии *Sr24* встречались в популяциях 2016, 2017, 2018 и 2019 гг. с частотой от 4,8 до 24,3%. Высокой частотой встречаемости характеризовались изоляты с генами вирулентности *pp*: 5, 9e, 21, 7b, 6, 8a, 9g, 9a, 9d, 10, 38, *Tmp* и *McM*. Можно отметить уменьшение к 2019 году частоты изолятов с генами *p17*, *p11* и *p9b*.

Из популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* были выделены монопустульные изоляты гриба (19 изолятов из популяции 2016 года, и 41 изолят из популяции 2017 года, 21 изолят из популяции 2018 года и 37 изолятов из популяции 2019 года) и определен расовый состав. Среди монопустульных изолятов из саратовской популяции *Pgt* 2016 года выявлено 18 фенотипов (рас) патогена с разным количеством генов вирулентности; среди популяции 2017 г. выявлено 37 фенотипов; из популяции 2018 г. — 17 фенотипов, а из изолятов гриба 2019 г. — 34 фенотипа. Надо отметить, что такая тенденция высоко-го фенотипического разнообразия сохраняется на протяжении нескольких лет и, вероятно, связана с половой стадией размножения гриба на барбарисе.

В популяциях патогена 2016–2019 гг. не обнаружены изоляты, вирулентные к линии с геном *Sr31*, однако были выявлены агрессивные изоляты с большим количеством генов вирулентности (от 14 до 19). В популяции 2016 г. их доля составила 42,2%, в популяции *Pgt* 2017 г. — 49%, 2018 г. — 60% и 2019 г. — 48,6% изоля-

тов. Это изоляты с фенотипами *TGTFP*, *TGTTCS*, *FTSRE*, *TJRTE*, *TTMTF*, *TKSTF* и *TTSTF* в популяции 2016 года; *PTGTF*, *SHRTE*, *TFSTF*, *TGSTF*, *RKTTC*, *THSTF*, *TJSTF*, *TKNTE*, *RTSTF*, *TJTTE*, *TKJTP*, *TKSTF*, *TKKPE*, *TTQTF*, *TKTTF*, *TTRTP*, *TTTTF* — в популяции 2017 года; *QQTTE*, *TKRFE*, *TTLKE*, *TKNSP*, *TPRKE*, *TTRKE*, *TKTTF*, *TTSTF*, *TTTTF* — в популяции 2018 года и *PFSTF*, *CTNTP*, *STPTD*, *TKPSF*, *TKKTC*, *KKSTF*, *KTGTP*, *TTNHP*, *TKKTE*, *TSSTF*, *TKSTM*, *TTSTM*, *TTSTF* и *TTTTTP* — в популяции 2019 года.

Также надо отметить, что в разные годы из лысогогорской популяции *Pgt* было выделено несколько крайне вирулентных фенотипов. Фенотип *TKSTF* был выделен из популяций 2016 и 2017 гг., фенотип *TTSTF* был выделен из популяций 2016, 2018 и 2019 г. Кроме того, в популяциях 2017 и 2018 гг. впервые для Поволжья были выделены изоляты с фенотипом *TTTTF*, а в 2019 году — два изолята с фенотипом *TTTTTP*, авирулентные только к линии с геном *Sr31*. Фенотипически поволжские изоляты *TTTTF* соответствуют «сицилийской» расе *Pgt*, вызвавшей эпифитотию в Сицилии в 2016 году, а также расе *TTTTF*, выделенной из омской популяции стеблевой ржавчины 2016 года (http://wheatrust.org/fileadmin/www.grcc.au.dk/International_Services/Pathotype_SR_Results/Country_report_Russia_-_August2017.pdf). Кроме того, из популяций 2017 и 2018 года были выделены изоляты с фенотипом *TKTTF*. Как упоминалось выше, раса *TKTTF* обнаружена в странах Ближнего Востока и Европы, в том числе в Германии и Великобритании (Olivera et al., 2017; Lewis et al., 2018). Выяснение того, насколько выделенные изоляты *TKTTF* отличаются от эфиопских и европейских с тем же фенотипом, является предметом дальнейших исследований.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00170 а.

Список литературы

- Lewis C. M., Persoons A., Bebbler D. P., et al. Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United

- Kingdom. *Communications Biology*. 2018;1:13. DOI: 10.1038/s42003-018-0013-y.
2. Olivera P., Newcomb M., Flath K., *et al.* Characterization of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. *British Society for Plant Pathology*. 2017;66:1258–1266. DOI: 10.1111/ppa.12674.
 3. Bhattacharya S. Deadly new wheat disease threatens Europe's crops. *Nature*. 2017;542:145–146.
 4. Jin, Y., Singh, R. P., Ward, R. W., Wanyera, R., *et al.* Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic Sr gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici*. *Plant Disease*. 2007;91:1096–1099.
 5. Stakman E.C., Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. United States Department of Agriculture — Agricultural Research Service. 1962. E-617 (rev).

КОМПЛЕКС ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КЛУБНЯМИ КАРТОФЕЛЯ

Белосохов А.Ф.¹, Миславский С.М.², Ярмеева М.М.¹, Еланский С.Н.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет;

²Российский университет дружбы народов, Аграрно-технологический институт, Москва

Картофель — важная сельскохозяйственная культура, объемы производства которой в России на 2020 год превышают 7,5 млн тонн. Несмотря на большую экономическую значимость картофельных инфекций, мониторинговые исследования грибов, участвующих в событиях патогенеза на картофеле, проводятся только для известных карантинных патогенов. Согласно полученным нами данным, комплекс видов микромицетов, ассоциированных с клубнями картофеля, и являющихся потенциальными активными участниками событий патогенеза намного шире, чем ранее представлялось, и постоянно расширяется.

В последнее время наблюдается динамика видового состава почвенных микромицетов, ассоциированных с клубнями картофеля. С 2017 по 2020 гг. мы исследовали клубни картофеля с коммерческих посадок в Московской области, респ. Адыгея, Краснодарского края, Магаданской, Калужской, Костромской, Тамбовской областей и респ. Саха-Якутия, взятые из почвы в вегетационный период и из хранилищ во время хранения. Выделенные в чистую культуру виды были идентифицированы по морфолого-культуральным и молекулярным признакам (использованы специфичные участки ITS1–5.8S-ITS2 и гена β -тубулина).

Мы обнаружили значительное разнообразие комплекса видов рода *Fusarium* на клубнях картофеля. В числе идентифицированных штаммов выявлено по меньшей мере 15 различных видов: *Fusarium acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. bulbicola*, *F. chlamydosporum*, *F. creokwellense*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. globosum*, *F. incarnatum*, *F. langsethiae*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. verticillioides*. В виду исключительной сложности идентификации видов и широкой изменчивости лишь часть видов поддается определению по морфологическим признакам, и секвенирование лишь по одному гену и ITS региону может оказаться недостаточным (Watanabe *et al.*, 2009; Summerell, 2019). Окончательное слово в составе комплекса видов рода *Fusarium* остается за молекулярной идентификацией по нескольким генам. С учетом этого, мы оставляем за собой предположение, что состав комплекса может быть пересмотрен с добавлением разделяемых молекулярно видов.

Были идентифицированы патогенные микромицеты, регулярно выделяемые из клубней картофеля: *Alternaria alternata*, *A. infectoria*, *A. oleracea*, *A. tenuissima*, *Cephalotrichum* sp., *Colletotrichum coccoides*, *Geotrichum candidum*, *Helminthosporium solani*, *Stemphylium solani*, *Verticillium dahliae*. А также условно-патогенные виды и вторичные патогены: *Curvularia lunata*, *Gliomastix murorum*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Stemphylium solani*, *Cephalotrichum gorgofiner*, *C. purpureofuscum*. Статус некоторых микромицетов подлежит дальнейшему исследованию. Так, выявленный комплекс видов *Cladosporium* spp. с одной стороны содержит космополиты и вторичные патогены, с другой стороны, имеются данные о эндозитизме видов (Намаюн *et al.* 2009). В нашей работе некоторые штаммы были выделены непосредственно из здоровых тканей растений, а не с поверхности клубней, что может говорить о двойственности роли *Cladosporium* в событиях патогенеза.

С клубней картофеля были выделены виды, для которых имеются данные об их возможном участии в событиях патогенеза в качестве агентов контроля (Rivera-Varas *et al.*, 2009; Suqin & Wang, 2010; Demirci, Elif & Cafer, 2011; Singh *et al.*, 2013; Zhao, *et al.*, 2017): *Acrostagmus luteoalbus*, *Arthrotrichum oligospora*, *Chaetomium globosum*, *Metarhizium marquandii*, *Sarocladium strictum*, *Trichoderma citrinoviride*, *Trichoderma longibrachiatum*.

На картофеле выявлено несколько видов рода *Clonostachys* — известных агентов контроля против многих патогенных микромицетов, в том числе, грибов рода *Fusarium*: *Clonostachys compactiuscula*, *C. lasiacidis*, *C. pseudochochroleuca*, *C. rosea*, *C. rosea f. catenulata*, *C. rosea f. rosea*, *C. sequicillii*, *C. solani f. nigrovirens*. Разнообразие видов этого рода на клубнях изучено очень слабо. Такие виды как *C. lasiacidis*, *C. pseudochochroleuca* и *C. sequicillii* никогда ранее не были отмечены для картофеля.

Особое значение имеют виды, никогда ранее не отмечавшиеся для клубней картофеля: *Acremonium charticola*, *Acremonium minutisporum*, *Berkeleyomyces basicola*, *Botryotinia ranunculi*, *Cercospora beticola*, *Chaetomium uniseriatum*, *Didymella microchlamydospora*, *Entrophospora* sp., *Gibellulopsis nigrescens*, *Helminthosporium velutinum*, *Ilyonectria destructans*, *Penicillium steckii*, *Penicillium waksmanii*, *Pseudogymnoascus destructans*, *Septotinia populiperda*,

Ulocladium oudemansii. Всего 16 новых для клубней картофеля видов. Эксперименты по заражению показали, что *S. populiperda* и *C. uniseriatum* являются активными патогенами и способны инициировать первичное заражение и вызывать значительные повреждения клубней.

Наши данные свидетельствуют об изменении и расширении видового состава почвенных микромицетов, ассоциированных с клубнями картофеля. На клубнях обнаруживаются новые виды грибов из почвы, в том числе патогенные, что говорит о необходимости мониторинговых исследований почвенных грибов на картофеле и разработке новых методов защиты клубней.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант 20-016-00139).

Список литературы

1. Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee, K. et al. Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. *BMC Evol Biol* 11, (2011): 322.
2. Summerell, Brett A. "Resolving *Fusarium*: current status of the genus." *Annual review of phytopathology* 57 (2019): 323–339.
3. Hamayun, M., Afzal Khan, S., Ahmad, N. et al. *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth-promoting endophyte from the roots of *Glycine max* (L.) Merr.. *World J Microbiol Biotechnol* 25, (2009): 627–632.
4. Rivera-Varas, Viviana V., et al. "Mycoparasitism of *Helminthosporium solani* by *Acremonium strictum*." *Phytopathology* 97.10 (2007): 1331–1337.
5. Suqin, He, Jin Xiulin, and Wang Shengrong. "Antagonistic activity of *Acrostalagmus luteo-albus* against plant pathogenic fungi." *Journal of Gansu Agricultural University* (2010).
6. Demirci, Erkol, Elif Dane, and Cafer Eken. "In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*." *Turkish Journal of Biology* 35.4 (2011): 457–462.
7. Singh, Udai B., et al. "Arthrotrichy *oligospora*-mediated biological control of diseases of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) caused by *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani*." *Journal of applied microbiology* 114.1 (2013): 196–208.
8. Zhao, Shuang-Shuang, et al. "*Chaetomium globosum* CDW7, a potential biological control strain and its antifungal metabolites." *Microbiology Letters* (2017): 364.3.

РЖАВЧИНА ЗЛАКОВ НА ТЕРРИТОРИИ ЗБС МГУ

Благовещенская Е.Ю.

Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

Ржавчина — заболевание растений, вызываемое грибами порядка Pucciniales (Pucciniomycetes, Pucciniomycotina, Basidiomycota). Многие ржавчинные грибы являются известными патогенами сельскохозяйственных растений, в том числе хлебных злаков. Важной особенностью биологии этих организмов является то, что многие из этих патогенов имеют промежуточных хозяев среди дикорастущих растений и даже могут проходить весь свой жизненный цикл вне сельскохозяйственных угодий, имея в природных условиях своеобразное депо инфекции.

Исследование проводили на Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (ЗБС МГУ). ЗБС МГУ расположена на западе Московской области и имеет статус ООПТ областного значения (заказник «Звенигородская биостанция МГУ и карьер Сима»). Наблюдения велись ежегодно с 2014 г. в течение вегетационного сезона.

Всего на ЗБС МГУ отмечено 78 видов ржавчинных грибов [1], из них 7 могут развиваться на различных видах сем. Роасеае (таблица). В том числе на территории присутствуют следующие патогены хлебных злаков: *Puccinia coronata* — возбудитель корончатой ржавчины овса, *P. graminis* — возбудитель стеблевой (линейной) ржавчины злаков, *P. recondita* — возбудитель бурой листовой ржавчины ржи и пшеницы, причем первые два отмечены на достаточно широком круге хозяев. Эти же

виды постоянно отмечаются на своих промежуточных хозяевах.

P. coronata развивает эциостацию на крушине, которая является массовым кустарником на территории ЗБС МГУ [2], и поэтому неудивительно, что развитие этого вида на различных злаках тоже происходит повсеместно; всего патоген отмечен на 6 дикорастущих злаках (таблица). А *P. graminis* развивается на единственном кусте барбариса, растущем непосредственно в центре поселка биостанции, так что, либо споровой нагрузки с этого куста хватает для покрытия территории биостанции, либо, что более вероятно, в развитии заболевания участвуют посадки барбариса на прилегающих к биостанции территориях. Также на злаках ЗБС МГУ постоянно развиваются еще 3 вида разнохозяиных ржавчинных грибов, и эпизодически в эциостации (на конском щавеле) отмечается 1 вид (*P. phragmitis*), основным хозяином которого должен быть тростник. Поскольку основной хозяин на территории заказника присутствует, то, вполне вероятно, в будущем этот вид будет отмечен и в стадии урединиев и телиев.

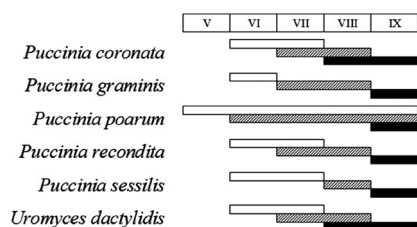
Все виды демонстрируют закономерную смену стадий в течение вегетационного сезона (рисунок), причем для многих видов периоды развития разных стадий перекрываются. Особенно это выражено у *P. poarum*, у этого вида эциостацию на листьях мать-и-мачехи можно обнаружить с весны и вплоть до наступления осени. Связано это с тем, что патоген дает две перекрывающихся

Таблица— Виды ржавчинных грибов злаков ЗБС МГУ и их растения-хозяева

Вид ржавчинного гриба	Промежуточный хозяин	Основной хозяин
<i>Puccinia coronata</i> Corda	<i>Frangula alnus</i> P. Mill.	<i>Agrostis tenuis</i> Sibth.; <i>Calamagrostis arundinacea</i> (L.) Roth; <i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth; <i>Festuca gigantea</i> (L.) Vill.; <i>Lolium perenne</i> L.; <i>Poa nemoralis</i> L.
<i>Puccinia graminis</i> Pers.	<i>Berberis vulgaris</i> L.	<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl; <i>Dactylis glomerata</i> L.; <i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.; <i>Festuca gigantea</i> (L.) Vill.
<i>Puccinia phragmitis</i> (Schumach.) Körn.	<i>Rumex confertus</i> Willd.	(<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.*)
<i>Puccinia poarum</i> Niels.	<i>Tussilago farfara</i> L.	<i>Poa annua</i> L.; <i>Poa nemoralis</i> L. <i>Poa pratensis</i> L.
<i>Puccinia recondita</i> Roberge ex Desm. (= <i>P. dispersa</i> Erikss. & Henning; = <i>P. triticina</i> Erikss.)	<i>Pulmonaria obscura</i> Dumort.; <i>Symphytum officinale</i> L.; <i>Thalictrum simplex</i> L.	<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth
<i>Puccinia sessilis</i> W.G. Schneid. ex Schröt.	<i>Convallaria majalis</i> L.; <i>Maianthemum bifolium</i> (L.) F.W. Schmidt <i>Paris quadrifolia</i> L.	<i>Phalaroides arundinacea</i> (L.) Rauschert
<i>Uromyces dactylidis</i> G.H. Otth	<i>Ficaria verna</i> Huds.; <i>Ranunculus cassubicus</i> L.; <i>Ranunculus repens</i> L.	<i>Dactylis glomerata</i> L.; <i>Festuca gigantea</i> (L.) Vill.

*На основном хозяине вид до настоящего времени не обнаружен

Рисунок — Сезонная динамика развития видов (обобщенные многолетние данные). Римские цифры — месяцы, белые прямоугольники — эциостадия, штрихованные — урединиостадия, черные — телиостадия



генерации и, фактически, за один вегетационный сезон успевает пройти полный жизненный цикл дважды.

Из отмеченных видов *P. coronata* и *U. dactylidis* уже в конце лета начинают формирование телиостадии —

спор переживания покоя, остальные же патогены переходят к телиостадии только в сентябре (а иногда и октябре). В связи с этим большой интерес представляют условия текущего 2020 г., так как из-за аномально теплой зимы, возможно, некоторые виды могли перезимовать в урединиостадии и дать вспышку болезни на основных хозяевах уже в начале предстоящего лета.

Список литературы

1. Благовещенская Е.Ю. Сезонная и многолетняя динамика развития ржавчинных грибов на ЗБС МГУ // Проблемы ботаники: история и современность. Воронеж: Цифровая полиграфия, 2020. 73–75.
2. Алексеев Ю.Е., Жмылев П.Ю., Карпухина Е.А. Флора сосудистых растений ЗБС и ее окрестностей // Руководство по летней учебной практике студентов-биологов на Звенигородской биостанции им. С. Н. Скадовского. М, 2011. 158–230.

АДВЕНТИВНЫЙ ДЛЯ СРЕДНЕЙ РОССИИ КРЕСТОВНИК *SENECIO DUBITABILIS* — НОВЫЙ ХОЗЯИН РЖАВЧИННОГО ГРИБА *COLEOSPORIUM TUSSILAGINIS SENSU LATO*

Бочков Д.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Крестовник сомнительный (*Senecio dubitabilis* C. Jeffrey & Y.L. Chen; Asteraceae) — постепенно расселяющееся в Европейской России растение центральноазиатского происхождения. В Московском регионе этот вид, близкий широко распространенному *S. vulgaris* L., впервые обнаружен в 2006 году и к настоящему времени известен лишь по единичным находкам вдоль железных дорог [1,2].

В июле 2019 года на территории Новой Москвы на железнодорожном полотне, в 200 м к СВ от пл. 240 км (примерно в 4,5 км южнее находки этого вида, описанной в [2]) среди рассеянной популяции были обнаружены отдельные растения *S. dubitabilis* с признаками поражения листьев ржавчинным грибом, предварительно распознанным как урединиальная стадия рода *Coleosporium*. Морфологический анализ образца под-

твердил его отнесение к комплексу *C. tussilaginis* (Pers.) Lév. sensu lato. У рассмотренного образца обнаружены характерные для этого гриба округлые урединии, образующиеся на нижней стороне листа, с широкоэллипсоидальными бородавчатыми спорами [3].

Урединии и телии *C. tussilaginis* sensu lato встречаются на листьях различных видов сложноцветных, реже — некоторых других семейств. В пределах комплекса нередко выделяются морфологически практически идентичные микровиды (иногда — в качестве форм), развивающиеся только на отдельных таксономически близких группах растений. Стадии спермогониев и эциев вида связаны с хвощами сосны [3].

Для растений из рода крестовник (в том числе для *S. vulgaris*) из комплекса *C. tussilaginis* sensu lato приводится *C. senecionis* (Pers.) Fr. [4]. Тем не менее, возможность выделения микровидов *Coleosporium* по растению-хозяину ставится под сомнение по причине их возможной неспецифичности [3].

C. tussilaginis sensu lato — единственный ржавчинный гриб, выявленный на растениях рода крестовник на территории России [3]. В Европе на *S. vulgaris* также выявлены некоторые виды *Puccinia*: *P. lagenophorae* Cooke, *P. opizii* Bubák, *P. senecionis-acutiformis* Hasler et al., а также *Aecidium senecionis-duriei* Gonz. Frag. [5]. До

настоящего времени об обнаружении ржавчинных грибов на *S. dubitabilis* как в пределах его первоначального ареала, так и в зоне расширяющегося вторичного ареала, не сообщалось.

Список литературы

1. Сухоруков А.П. Новые данные по распространению *Senecio dubitabilis* C. Jeffrey et G.L. Chen (*Compositae*) в Средней России. Бюлл. МОИП. Отд. биол. 2010; 115(3): 63.
2. Майоров С.Р., Алексеев Ю.Е., Бочкин В.Д., Насимович Ю.А., Теплов К.Ю., Щербаков А.В. Новые данные к флоре Московского региона. Бюлл. МОИП. Отд. биол. 2019; 124(3): 44–8.
3. Азбукина З.М. Определитель грибов России. Порядок Ржавчинные. 1. Владивосток: Дальнаука, 2015: 281 с.
4. Plant Parasites of Europe [Электронный ресурс] Режим доступа bladmineerders.nl, свободный. Дата обращения: 25.01.2020.
5. U.S. National Fungus Collections Fungus-Host Distribution Database [Электронный ресурс] Режим доступа nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/fungushost/fungushost.cfm, свободный. Дата обращения: 25.01.2020.

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРИБОВ РОДА *COCHLIOBOLUS* (*HELMINTHOSPORIUM*), ПОРАЖАЮЩИХ КУКУРУЗУ И ПШЕНИЦУ

Дудченко И.П., Скрипка О.В., Уварова Д.А., Копина М.Б., Тихонова К.О.
Всероссийский центр карантина растений ФГБУ «ВНИИКР», р.п. Бьково

В настоящее время, согласно Index Fungorum род *Cochliobolus* Drechs. насчитывает свыше 55 видов, многие из которых являются телеоморфной стадией видов рода *Helminthosporium* Lk et Fr., вызывающих гельминтоспориозы. Наиболее вредоносными из них являются возбудитель темно-бурой пятнистости зерновых *Cochliobolus sativus* = *Bipolaris sorokiniana* = *Helminthosporium sativum*, возбудитель южного гельминтоспориоза кукурузы *Cochliobolus heterostrophus* = *Bipolaris maydis* = *Helminthosporium maydis* и возбудитель южной пятнистости листьев кукурузы *Cochliobolus carbonum* = *Bipolaris zeicola* = *Helminthosporium carbonum*. Надо отметить, что эти патогены обладают высокой адаптивностью и способностью образовывать новые расы, отмечены во многих регионах возделывания кукурузы [1–3,5]. В настоящее время *C. carbonum* по данным Россельхознадзора (2019 г.) является отсутствующим объектом на территории России, и он включен в «Единый перечень карантинных вредных организмов Евразийского экономического союза».

Обеспечение продовольственной безопасности ввозимой сельскохозяйственной продукции ставит перед специалистами фитосанитарной службы задачу по разработке и внедрению ускоренных и достоверных методов идентификации фитопатогенов. Традиционно диагностику грибов рода *Helminthosporium* проводят по симптомам болезни, культурально-морфологическим

признакам возбудителя и связи с питающим растением [3,4].

Целью нашего исследования являлась оптимизация методов идентификации возбудителя южной пятнистости листьев кукурузы *C. carbonum* в сравнении с другими близкородственными видами.

Объектами видовой идентификации являлись чистые культуры различных видов грибов рода р. *Cochliobolus*, выделенные из образцов кукурузы и пшеницы, при проведении лабораторных исследований в различные годы. В настоящее время выбранные культуры составляют микологическую коллекцию ФГБУ ВНИИКР. При этом использовались такие методы диагностики, как классический культурально-морфологический метод, метод ПЦР с универсальными праймерами и последующим секвенированием, а также метод дуплексной ПЦР с видоспецифическими праймерами для одновременной идентификации двух видов: *C. carbonum* и *C. heterostrophus*.

Определяющим критерием диагностики гельминтоспориозных грибов классическим методом являлось сравнение колоний 4-дневных культур, культивируемых на питательной среде (КГА), и анализ морфологических характеристик образовавшегося спорония.

При проведении классической ПЦР с последующим секвенированием для идентификации видов *Cochliobolus spp.*, в качестве мишеней, были использованы

универсальные праймеры ITS4/ITS5 с дальнейшей расшифровкой нуклеотидных последовательностей ITS (внутреннего транскрибируемого спейсера) рибосомальной ДНК [6]. Данный метод характеризуется высокой точностью идентификации, небольшим объемом времени для анализа, однако требует наличия квалифицированного персонала и дорогостоящего оборудования.

Для выделения ДНК использовались наборы «Проба ГС», кат. № Р-003/1 (производство ОАО «АгроДиагностика»), «Ампли Туб-РВ» комплект № 1 (производство ООО «Синтол») и набор на основе магнитных частиц «М-Сорб-Туб» (производство ООО «Синтол») для выделения на Tecan Freedom EVO.

В результате проведенной работы, в микологической коллекции ФГБУ ВНИИКР были идентифицированы следующие виды: *S. sativus*, выделенный с пшеницы и ячменя; *S. maydis*, выделенный с кукурузы и *S. carbonum*, выделенный с кукурузы и пшеницы. Следует отметить, что пшеница не является поражаемым растением для *S. carbonum*, однако нами было зафиксировано несколько случаев выявления патогена на этой культуре, что позволяет предположить возможность расширения специализации этого возбудителя.

Также в исследовании применялся метод дуплексной классической ПЦР (с использованием специфических праймеров Vz-F/Vz-R, Vm-F/Vm-R (Евроген), что позволило провести одновременную диагностику сразу двух видов гелиминтоспориоза на кукурузе *S. carbonum* и *S. maydis*. Размер продукта амплификации для *S. carbonum* составил 268 п.о. и для *S. maydis* 539 п.о. [7].

Эти патогены могут поражать одновременно растения кукурузы, и их симптоматика часто бывает трудно-различима, так как пятнистость на листьях, вызванная *S. carbonum* (раса 2) часто маскируется *S. maydis* (раса Т). Применение дуплексной ПЦР позволило точно идентифицировать *S. carbonum* и *S. maydis*, избежав ложноположительных реакций с другими видами грибов. Этот метод также специфичен и удобен для прямого обнаружения патогенов в зараженных листьях кукурузы без чистой культуры. Ожидается, что он бу-

дет применяться в случаях, когда требуется быстрая и точная диагностика. [7].

Применение метода ПЦР не исключает, а дополняет традиционные методы, используемые в фитосанитарной диагностике. Результаты определения видов грибов рода *Cochliobolus* с помощью культурально-морфологического метода, использования классической ПЦР с секвенированием, а также дуплексной ПЦР, оказались идентичными. Совмещение классических и молекулярных методов диагностики фитопатогенов способствует получению более достоверных и надежных результатов.

Список литературы

1. Боровская М.Ф., Матичук В.Г. Болезни кукурузы — Кишинев: Штиинца, 1990, 273.
2. Иващенко В.Г. Болезни кукурузы: этиология, мониторинг и проблемы сортоустойчивости. Санкт-Петербург — Пушкин: Вестник защиты растений. ФГБНУ ВИЗР, 2015, 286.
3. Информационный лист по регулируемым вредителям. Возбудитель пятнистости листьев кукурузы *Cochliobolus carbonum*. Вредные организмы, имеющие карантинное значение для Европы. 1996. М., Колос, 402–406.
4. Мартынюк Т.Д. Возбудители грибных болезней кукурузы в Приморском крае. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. 2002.
5. Compendium of Corn Diseases, 4rd ed. by G.P. Munkvold, D.G. White. St Paul, USA: American Phytopathological Society Press (<http://www.scisoc.org>), 2016, 33–36.
6. White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, ed. Pcr protocols, a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press. pp. 315–322.
7. Kang IJ, Shim HK, Roh JH, Heu S, Shin DB. Simple Detection of *Cochliobolus* Fungal Pathogens in Maize. *Plant Pathol J.* 2018;34(4):327–334.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРИАбельНОСТИ ГЕНА БЕТА-ТУБУЛИНА И УСТОЙЧИВОСТИ К ТИАБЕНДАЗОЛУ ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *HELMINTHOSPORIUM SOLANI*

Еланский С.Н.^{1,2}, Кутузова И.А.¹, Чудинова Е.М.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;

²Российский университет дружбы народов, Москва.

Helminthosporium solani Durieu & Montagne — почвенный гриб, способный как к сапротрофному, так и к паразитическому образу жизни.

Он является возбудителем «серебристой парши» — одного из самых распространенных заболеваний картофеля. Серебристая парша значительно снижает эстетичность клубней, особенно заметны поражения на клубнях красных сортов картофеля.

Для борьбы с *H. solani* применяются фунгицидные препараты, самым популярным из которых является тиабендазол. Он входит в состав пирогенных (поджигаемых) шашек, которыми удобно обрабатывать клубни в хранилище. При длительном использовании препаратов с тиабендазолом появляются устойчивые штаммы *H. solani*. Присутствие в популяциях устойчивых штаммов приводит к резкому снижению эффективности применения тиабендазола.

В работе исследовали естественно зараженные образцы клубней картофеля из Дальневосточной (Магаданской области и Приморского края) и Европейской части России (Московской, Костромской, Калужской, Владимирской, Брянской, Костромской областей, Чувашской республики), собранные в 2013–2018 годах на коммерческих картофельных полях. Всего было проанализировано 37 штаммов.

Выделение штаммов *H. solani* в чистые культуры, экстракцию ДНК, проведение ПЦР, экстракцию ампликонов из геля, секвенирование, выполняли как описано в [1]. Оценку устойчивости к тиabendазолу проводили на питательной среде, содержащей фунгицид в разных концентрациях. Оценивали рост штаммов на среде с фунгицидом относительно бесфунгицидного контроля. Для каждого штамма оценивали показатель EC_{50} , т. е. концентрацию тиabendазола в среде, которая приводила к замедлению радиального прироста колонии в 2 раза относительно контроля.

Мутации в гене бета-тубулина не были обнаружены у 30 протестированных штаммов из европейских и дальневосточных регионов России. Все эти штаммы были чувствительны к тиabendазолу ($EC_{50} < 8,5$ мг/л). Последовательности их генов бета-тубулина были одинаковыми и соответствовали последовательности GenBank Y10670 для штаммов, чувствительных к тиabendазолу [2]. Мутации в изучаемом гене были обнаружены у 7 штаммов. Эти штаммы различались по устойчивости к тиabendазолу. Штамм из Московской области H14MCh2 с мутацией в кодоне 200 (замена Phe (TTC) на Tyr (TAC)) и штаммы H14MCh24 (Московская обл.), H15KSu10 (Костромская обл.), H18KNp2-1/1 (Калужская обл.) с мутацией в кодоне 198 (замена Glu (GAG) на Gln (CAG)), были высоко

устойчивы к тиabendазолу ($EC_{50} > 1000$ мг/л). Устойчивость к тиabendазолу штаммов, обладающих этими мутациями, была отмечена и другими исследователями [2,3].

Два штамма из Магаданской области (H17MaS 7/5 и H17MaS 11/2) имели мутацию гена бета-тубулина в кодоне 305. Эта ранее не известная однонуклеотидная мутация не вызывала замещения аминокислот и не повышала устойчивость к фунгициду.

Таким образом, устойчивые к тиabendазолу штаммы с мутациями в гене бета-тубулина были обнаружены только в Европейской части России. Штаммы, выделенные из клубней картофеля, выращенных на Дальнем Востоке, были чувствительны к тиabendазолу.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант 20-016-00139).

Список литературы

1. Kutuzova IA., Kokaeva LY., Pobendinskaya MA, Krutyakov YA, Skolotneva ES, Chudinova EM, Elansky SN (2017) Resistance of *Helminthosporium solani* strains to selected fungicides applied for tuber treatment. *J Plant Pathol* 99(3):635–642.
2. McKay GJ, Cooke LR (1997) A PCR-based method to characterize and identify benzimidazole resistance in *Helminthosporium solani*. *FEMS Microbiol Lett* 152:371–378.
3. Koenraadt H, Somerville SC, Jones AL (1992) Characterization of mutations in the beta-tubulin gene of benomyl-resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 82:1348–1354.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ *THIELAVIOPSIS BASICOLA* (BERK. & BROOME) FERRARIS ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧЕРНОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ХЛОПЧАТНИКА НА ЮГЕ УЗБЕКИСТАНА

Глухова Л.А., Курбонов А., Автономов В.

Научно-исследовательский институт селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопка МСВХ, Республика Узбекистан

T. basicola — возбудитель черной корневой гнили хлопчатника (ЧКГ) относится к перечню тридцати грибных патогенов хлопчатника, способных вызывать болезни, имеющие значительное экономическое значение (Lyon et al., 2006). Круг растений-хозяев *T. basicola* насчитывает более чем 230 видов различных растений (Farr & Rossman, 2013).

Возбудители корневой гнили способны поражать на 72% всходы хлопчатника, что приводит к сильному снижению урожая. Снижение урожая хлопка-сырца от *T. basicola* достигает от 20–30 (Билай и соавт., 1988) до 29,6–57,7%. В годы, благоприятные для развития патогена, наблюдается гибель растений и необходимость пересева (Здрожевская, 1969). В 2010–11 гг. ЧКГ была обнаружена в 93% хранилищ и 83% рассмотренных областей Австралии (Allen et al., 2012a). По данным Lily Pereg-Gerk, приводимым в отчете по проекту 1.01.21,

потери у фермеров Австралии составляют до 40% ежегодно. В 2004, болезнь была объявлена как пандемик австралийского хлопка (Pereg, 2013).

Патоген *T. basicolais* распространен на хлопчатнике практически во всех хлопководящих государствах. В настоящее время, *T. basicolais* признан экономически важным патогеном рассады хлопка во всем мире (Allen, 2001). По данным исследователей Wang, H., and Davis, R. M. (1997); Wheeler, T. A., and Gannaway, J. R. (1998), в настоящее время устойчивых к *Th. basicola* культурных сортов хлопчатника нет.

Материалами для исследований служили образцы растений хлопчатника с признаками ЧКГ и почвы из ризосферы, собранные в весенний и осенний периоды. Оценка болезни гипокотилиа и корня проводилась по шкале учета (Rothrock et al, 2007). Для поверхностной стерилизации образцов растений, собранных в весен-

ний период, в результате многочисленных экспериментов, была выбрана минимальная концентрация NaClO. Для растений, собранных осенью, использовали метод Хасанова и Глуховой (1992), заключающийся в последовательном погружении отрезков образцов по 2–3 мм в кассетах из инертного материала в водный 0,002% раствор детергента Твина на 30 с, затем по 30 с в 0,5% раствор NaClO и 70% этанол, трижды ополаскивали в стерильной дистиллированной воде по 1 мин., просушивали на стерильной фильтровальной бумаге и раскладывали на поверхность агаризированных сред: водный (голодный), картофельно-декстрозный, мальт-экстракт (МЕА) и морковный агары. Для роста патогена использовали морковные диски, антибиотики (хлорамфеникол, стрептомицин сульфат). Засеянные ЧП экспонировали в климатической камере с фотопериодом 12 час при температуре 22–23 °С, в период темноты 16–17 °С.

Для роста и выделения *T. basicola* использовали методы биологических приманок — свежие морковные диски, разработанный Yarwood в 1946 году, модифицированный Avanzato & Rothrock в 2010 году, и половинки, разрезанной вдоль моркови, предложенной Williamson в 2014 году. Оба метода были нами модифицированы, путем использования свежих морковных дисков не только для анализов почвы, но и для образцов растений между двумя дисками, при этом на диски и половинки, разрезанной вдоль моркови, наносили треугольные выемки для лучшего крепления резинок. Для создания влажной камеры использовали стерильные целлофановые пакеты в обоих вариантах, а вместо дисков из фильтровальной бумаги использовали диски из более влагоемкой крафт-бумаги, что позволяло нам дополнительно не увлажнять диски до окончания эксперимента.

Таксономическая принадлежность патогенов проводилась по определителям: Билай и соавт., 1988 и Пидопличко, 1977. Выделенные нами культуры гриба *T. basicola* на стандартной картофельно-декстрозной среде имели серо-черный, частично погруженный в субстрат мицелий. Фиакоконидии, или эндококонидии, цилиндрические, усеченные с обоих концов, гладкие, бесцветные, 7,5–17,1 X 2,5–4,5 мкм. Хламидоспоры в цепочках по 3–6 шт., темно-бурые с толстой бородавчатой клеточной стенкой, длина одной 8,9–2,25 мкм, толщина 9,75–15 мкм.

Выделенные культуры *T. basicola* будут использоваться для скрининга при создании высокоустойчивых к ЧКГ гибридных комбинаций и новых сортов хлопчатника с хорошими агрономическими качествами: ультраскороспелых, с высоким качеством и количеством волокна.

Список литературы

1. Bruce R. Lyon and L. Augusto Becerra-Lopez Lavalle. Molecular Diagnosis of Fungal Pathogens in Cotton. The University of Sydney, Sydney, NSW 2006.
2. Farr DF, Rossman AY (2013) Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA, Washington, DC. Available at: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> (accessed 29 June 2013).
3. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г., Краев Г.В., Эланская И.А., Зирка Т.И. с соавт., Микроорганизмы — возбудители болезней растений. Справочник. Под ред. Билай В.И. Киев. «Наукова Думка», 1988. — С. 158–15.
4. Здрожевская С.Д. Биолого-токсикологическое обоснование химических средств борьбы с корневой гнилью всходов тонковолокнистого хлопчатника. Автореферат диссертации. — Л.:ВИЗР, 1969. — 18 с.
5. Allen SJ, Kirkby KA, Lehane J, Lonergan PA, Cooper BR, Smith LJ (2012a) Cotton pathology survey 2010–11. In 'Cotton pest management guide 2011–2012'. (Cotton Catchment Communities CRC: Narrabri, NSW) Available at: www.cottoncrc.org.au/industry/Publications/Cotton_Pest_Management_Guide_2011_12.
6. Pereg L.L. 2013 Black root rot of cotton in Australia: the host, the pathogen and disease management. Crop and Pasture Science 64(12) 1112–1126 <http://dx.doi.org/10.1071/CP13231>.
7. Allen, S. J. 2001. Black root rot. Pages 16–17 in: Compendium of Cotton Diseases. T. L. Kirkpatrick and C. S. Rothrock, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
8. Wang, H., and Davis, R. M. 1997. Susceptibility of selected cotton cultivars to seedling disease pathogens and benefits of chemical seed treatments. Plant Dis. 81:1085–1088.
9. Wheeler, T. A., and Gannaway, J. R. 1998. Effects of cotton pathogens on disease symptoms and yield of cotton varieties in large plot field trials. Pages 165–168 in: Proc. 1998 Beltwide Cotton Conf. P. Dugger and D. A. Rochter, eds. National Cotton Council, Memphis, TN.
10. Dr. Craig S. Rothrock¹, Dr. Patrick D. Colyer², Mrs. M. L. Buchanan¹, and Dr. E. E. Gbur¹. Cotton Seedling Diseases: Importance, Occurance and Chemical Control.
11. Хасанов Б.А., Глухова Л.А. 1992. Методические указания по выделению, идентификации возбудителей и созданию искусственного инфекционного фона «гельминтоспориозов» ячменя Ташкент, изд. Фан.
12. Yarwood, C. E. (1946). Isolation of *Thielaviopsis basicola* from soil by means of carrot discs. Mycologia 38: 346–348.
13. Avanzato, M.V. and C.S. Rothrock. 2010. Use of Selective Media and Baiting to Detect and Quantify the Soil-borne Plant Pathogen *Thielaviopsis basicola* on Pansy. The Plant Health Instructor.
14. Meg Williamson. Carrot Bait for *Thielaviopsis basicola*. Clemson University Plant Problem Clinic, 2014. NPDN DiagnosticTips.
15. Н.М. Пидопличко. Грибы — паразиты культурных растений. Определитель. Т. 2. «Наукова Думка». Киев — 1977, с. 102.

ФОМОИДНЫЕ ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАСТЕНИЯМИ СЕМЕЙСТВА CONVULVULACEAE

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

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

В коллекции чистых культур Лаборатории Микологии и фитопатологии Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ФГБНУ ВИЗР) хранится 40 штаммов фомоидных грибов, выделенных из пораженных растений семейства *Convolvulaceae* (*Calystegia sepium*, *C. inflata*, *Convolvulus arvensis* и *Ipomea purpurea*), собранных в разные годы на территории России и республик бывшего СССР.

В условиях чистой культуры были изучены макро- и микроморфологические признаки всех штаммов. На основании наблюдаемых признаков была проведена их идентификация. В результате все штаммы были отнесены к четырем родам разных семейств сумчатых грибов. Для пяти штаммов была определена видовая принадлежность, из которых четыре были определены, как вид *Pyrenochaeta convolvuli*, а один — *Ascochyta* cf. *convolvuli*. Остальные штаммы по морфологическим признакам не были идентифицированы до вида и предварительно определены, как *Mycosphaerella* sp. (1 штамм), *Phoma* sp. (34 штамма).

Помимо идентификации по морфологическим признакам, все штаммы были исследованы с помощью методов молекулярной филогении. Для них всех были определены нуклеотидные последовательности двух филогенетически информативных локусов рибосомальной ДНК: область внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS-регион) и большой субъединицы рибосомы (LSU). Для тех штаммов, идентификация которых не была осуществлена по данным о нуклеотидных последовательностях этих двух локусов, дополнительно было проведено секвенирование еще двух генов: β -тубулина (25 штаммов) и РНК-полимеразы-2 (22 штамма). В результате проведенного анализа с помощью метода максимального правдоподобия были построены филограммы, как комбинированные, так и для каждого локуса в отдельности.

На основании нуклеотидных последовательностей изучаемых локусов, было показано, что все изученные штаммы относятся к двум семействам фомоидных грибов: *Didymellaceae* (39) и *Cucurbitariaceae* (1).

К семейству *Cucurbitariaceae* был отнесен один штамм, который был идентифицирован, как *Pyrenochaeta acicola*. К семейству *Didymellaceae* по молекулярно-генетическим признакам было отнесено 39 штаммов. Они являлись представителями 8 родов: *Ascochyta*, *Boeremia*, *Didymella*, *Epicoccum*, *Nothophoma*, *Paraboeremia*, *Phomatodes* и *Stagonosporopsis*.

Восемь штаммов оказались представителями рода *Didymella*: *D. americana*, *D. glomerata*, *D. macrostoma*, *D. rosea*, *D. sinensis*. Четыре штамма на комбинированных филограммах не включали в состав формируемых ими клад ни одного референсного штамма, и, таким образом, вероятно, являются представителями трех новых для науки видов *Didymella* (MF-32.117, MF-12.28, MF-32.69, MF-32.65).

К виду *Boeremia exigua* было отнесено 10 штаммов. Однако, на комбинированных филограммах они формировали отдельную кладу, которая не включала ни одной из доступных в GenBank референсных последовательностей 12 описанных вариаций этого вида. Все

эти 10 штаммов с высокой долей вероятности являются новыми вариациями вида *Boeremia exigua*. К роду *Epicoccum* были отнесены три штамма, два из которых являются видом *E. plurivorum*, а MF-9.256 — скорее всего новым для науки видом этого рода. Три штамма являются представителями рода *Stagonosporopsis*: *S. cucurbitacearum*, *S. heliopsisidis*, *S. inoxydabilis*.

Те клады, к которым были отнесены штаммы *Ascochyta* (MF-17.19, MF-17.20, MF-17.21, MF-17.23, MF-17.24), *Nothophoma* (MF-52.4, MF-32.63, MF-32.68), *Paraboeremia* (MF-52.1, MF-52.6) и *Phomatodes* (MF-32.57.1, MF-32.161), не включали в свой состав на комбинированных филограммах ни одного референсного штамма представителей соответствующих родов, следовательно, все эти штаммы потенциально являются новыми видами.

Впервые на территории России в Приморском крае на *Convolvulaceae* (*Ipomea purpurea*) обнаружен вид *Didymella sinensis*, который до настоящего времени был выявлен только в Китае как оппортунистический патоген растений разных семейств, включая *Arecaceae*, *Orchidaceae*, *Rosaceae*, *Urticaceae* (Chen et al., 2017, Tennakoon et al., 2019). Впервые виды *D. rosea*, *S. cucurbitacearum*, *S. heliopsisidis*, *S. inoxydabilis* обнаружены нами в ассоциации с растениями семейства *Convolvulaceae*.

В целом результаты идентификации по морфологическим признакам в некоторой степени согласовались с данными молекулярно-филогенетического анализа. Штамм, который по морфологии был определен как *Pyrenochaeta convolvuli*, действительно оказался представителем этого рода, но другим видом — *P. acicola*. Все штаммы, которые по морфологии были определены как *Phoma* sp., *Ascochyta*, *Mycosphaerella* и несколько штаммов *Pyrenochaeta* оказались представителями разных родов семейства *Didymellaceae*.

Для некоторых филогенетических клад наблюдались и географические закономерности, и связь с питающим растением. Все штаммы потенциально нового вида *Ascochyta* sp. были выделены из выюнка полевого, собранного в Киргизии.

На данном этапе для того, чтобы в дальнейшем описать 9 новых для науки вида *Ascochyta*, *Didymella*, *Epicoccum*, *Nothophoma*, *Paraboeremia*, *Phomatodes* необходимы дальнейшие исследования с включением в молекулярно-филогенетический анализ типовых или репрезентативных штаммов наиболее близкородственных видов соответствующих родов.

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

Список литературы

1. Chen Q., Hou L.W., Duan W.J., Crous P.W., Cai L. *Didymellaceae* revisited // *Studies in mycology* 87. — 2017. — P. 105–159.
2. Tennakoon D.S., Thambugala K.M., De Silva N.I., Kuo C.H., Hyde K.D. Leaf litter saprobic *Didymellaceae* (Dothideomycetes): *Leptosphaerulina longiflori* sp. nov. and *Didymella sinensis*, a new record from *Roystonea regia* // *Asian journal of mycology* 2(1). — 2019. — P. 87–100.

ДЕЙСТВИЕ СТРОБИЛУРИНОВ НА ФИТОПАТОГЕНЫ

Гришечкина Л.Д.

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

В последние годы в борьбе с возбудителями болезней появились эффективные фунгициды, ингибирующие дыхательный процесс грибов: оксазолидиндионы, имидазолиноны, стробилурины и карбоксамиды 2-го поколения. Специфический механизм их действия выгодно отличает их от доминирующей группы препаратов в основном триазолового ряда, блокирующих синтез стерина в мембранах грибов. Среди них особое место занимали стробилурины, синтезированные аналоговым способом природных антибиотиков, выделенных из базидиомицетов порядка агариковых грибов из семейства болетовых (*Strobilurus tenacellus*) и семейства трихоловых (*Oudemansiella mucida*). Широта спектра фунгицидной активности, малая токсичность для теплокровных животных и человека хорошо сочетается с низкими нормами применения, оригинальным распределением активного вещества в тканях растений (мезосистемным, квазисистемным, трансляминарным и истинно или частично системным) и относительно длительным периодом защитного эффекта. Это во многом определяет коммерческий успех стробилуринов, наступивший спустя всего лишь три года после их открытия. Рациональность использованием их в системах защитных мероприятий для контроля многих фитопатогенов, и что особенно важно одновременно с мучнисто-росяных и ложно-мучнисто-росяными инфекциями на фоне положительных экотоксикологических показателей, сделало их применение предпочтительным. Мировые продажи стробилуринов на 84 сельскохозяйственных культурах составляют 10% от общего объема [1]. Они наиболее востребованы на зерновых, фруктовых, овощных культурах и виноградниках.

Так, исследованиями, проведенными в разных регионах России, была доказана высокая результативность препаратов на основе стробилуринов: Баритон, Иншур Перформ, Сценик Комби в борьбе с комплексной инфекцией на зерновых культурах. Предпосевная обработка семян пшеницы практически полностью подавляла развитие гриба *Tilletia caries* (DC.) Tul. на разных инфекционных фонах. В борьбе с возбудителем пыльной головни *Ustilago tritici* (Pers.) Rostr. большее значение имела пораженность растений. Так, при слабом поражении колосьев в контроле, болезнь отсутствовала, а в случае поражения колосьев в контроле до 7% эффективность препаратов варьировала от 62 до 94%. Обработка семян снизила инфицированность семян на 57–95% при их зараженности в контроле 21–76% микробией, представленной грибами родов *Fusarium* (16%); *Bipolaris* (33%) и *Alternaria* (41%). Это обеспечило в полевых условиях появление более дружных и равномерных всходов пшеницы, которые меньше поражались корневой гнилью. В результате использования

фунгицидов удалось сохранить урожай, что подтверждено статистикой обработкой полученных результатов.

Весьма успешными было применение стробилуринов (Аканто Плюс, КС; Амистар Трио, КЭ; Оптим, КЭ и др.) на зерновых культурах в борьбе с мучнистой росой (75–100%), бурой ржавчиной (86–100%), септориозом (60–100%) и другими болезнями пшеницы. Это подтверждено рядом исследований [2,3,4]. Наилучший результат гарантировали превентивные обработки, а в случае инфицирования растений только после использования препаратов куративного действия. Строгая регламентация применения стробилуринов в системах защитных мероприятий, особенно на многократно обрабатываемых культурах, позволяет сдерживать процесс формирования резистентности к этому классу фунгицидов. В силу высокой вероятности формирования резистентности впоследствии были разработаны комбинированные препараты, содержащие стробилурины, триазолы и карбоксамиды, из них наибольшее количество было предназначено для защиты зерновых культур: Абакус, СЭ; Приаксор, КЭ; Цериакс Плюс и т. д. Использование стробилуринов расширило возможности эффективной защиты картофеля (Квадрис, СК; Юниформ, СЭ), кукурузы (Делит про, КС; Максим квадрат, КС; Оптим, КЭ), сои (Оптим, КЭ, Стандак Топ, КС), рапса (Амистар экстра, СК; Карамба Дуо, КЭ), подсолнечника (Пиктор, КЭ, Оптим, КЭ; Амистар экстра, СК; Протазокс, КС, Амистар Голд, СК) и лука (Фанданго, КЭ).

Список литературы

1. D.W. Bartlett, J. Clough, R.A. Godfrey, J.R. Godwin, A.A. Hall, S.P. Heaney and S.J. Maund Understanding the strobilurin fungicides. *J. Pesticide Royal society chemistry*. 2001. P. 143–148.
2. Л.Д. Гришечкина, И. В.И. Долженко, Т.И. Милютенкова, А.С. Шатова, Д.Ю. Сеницын Биологическое обоснование использования стробилуринов в защите зерновых культур. Мат. Всероссийского совещания. Голицыно. 2003 С. 163–165.
3. Л.Д. Гришечкина, А.И. Силаев, Е.Ф. Коренюк Стробилурины для современных технологий возделывания зерновых культур. Мат. междунауч.-практ. конф. «Защита растений в современных технологиях возделывания сельскохозяйственных культур». Новосибирск. 2013. С. 109–112.
4. Н.Г. Петрова Использование стробилуринов для защиты яровой пшеницы. Матер. междунауч. практ. конференции «Современные технологии и средства защиты растений — платформа для инновационного освоения в АПК России» — СПб, 2018. С. 121–123.

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ РИЗОСФЕРНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К ФИТОПАТОГЕННЫМ МИКРОМЕЦЕТАМ

Иткина Д.Л. Сулейманова А.Д.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

С ростом населения планеты и истощением минеральных ресурсов почвы становится все более актуальной задача повышения урожайности сельскохозяйственных культур, борьба с дефицитом железа в растениях (хлороз), и борьба с патогенами сельскохозяйственных культур. Традиционные способы решения этих проблем неприменимы в больших масштабах (например, использование навоза), или не благоприятны для окружающей среды (например, бесконтрольное использование пестицидов). Поиск экологически чистых технологий, применение штаммов-антагонистов, ферментов и сидерофоров бактериального происхождения или использование штаммов бактерий, способствующих росту растений (PGPB), представляется перспективной альтернативой. Все больше исследователей привлекают внимание механизмы симбиотических взаимоотношений и данные об использовании почвенных бактерий (*Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas* и *Rhizobium*) для стимуляции роста растений [1]. Заражение кормов, продуктов питания и сельскохозяйственных культур микотоксичными грибами из родом *Fusarium* — это экономическая проблема, которая привлекает пристальное внимание и вызывает необходимость санитарно-микробиологического контроля почвы. Представители рода *Fusarium* (анаморфные плесневые грибы) приносят вред народному хозяйству и, являясь патогенами, вызывают заболевания растений — фузариозы, отравления животных и человека токсинами — фузариотоксикозы. В современных условиях развития сельского хозяйства возрастающую значимость приобретает применение бактериальных удобрений на основе рост-стимулирующих ассоциативных ризобактерий (plant growth-promoting rhizobacteria — PGPR) [2]. Урожайность сельскохозяйственных растений во многом зависит от разработки новых технологий, способствующих снижению норм внесения минеральных удобрений и затрат на единицу продукции. Актуальной проблемой сельского хозяйства является борьба с заболеваниями растений фитопатогенными микроорганизмами с целью увеличения качества и повышения урожайности экономически ценных культур.

Целью данной работы явилось изучить антагонистическую активность ризосферных штаммов бактерий *Pantoea* и *Bacillus* по отношению к фитопатогенным микромецетам.

Материалы и методы

В работе использовали бактериальный штаммы *Pantoea sp* 3.1 *Pantoea sp* 3.2, *Pantoea sp* 3.5.2, *Pantoea sp* 3.6.1 и *Bacillus sp*, выделенные из проб почв Республики Татарстан по признаку максимальной фитазной активности в 2009 году и идентифицированный молекулярно-генетическими методами анализа.

Антагонистические свойства штаммов бактерий *Pantoea sp* 3.1 *Pantoea sp* 3.2, *Pantoea sp* 3.5.2, *Pantoea sp* 3.6.1 и *Bacillus sp* исследовали по отношению к фитопатогенным микромецетам, предоставленных отделом сельскохозяйственной биотехнологии ГНУ Татарский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии.

Для идентификации фитопатогенов проводили выделение ДНК по методике Don Liu [3] из мицелия микромицетов, выращенных на среде Чапека в течение 4 дней при 28 °С. Полученную очищенную ДНК в объеме 1 мкл использовали для проведения ПЦР.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Для идентификации микромицетов проводили амплификацию с помощью термоциклера «MJ mini» («BioRad»). Для молекулярной идентификации и выявления внутривидовых различий проводили ПЦР с генов региона ITS (internal transcribed spacer, внутренний транскрибируемый спейсер). Реакционная смесь объемом 25 мкл состояла из 1 мкл матрицы (выделенной ДНК мицелия грибов); 2,5 мкл 1 мМ (10×) Taq-буфера, 0,5 мкл смеси 10мМ dNTPs; 1,0 мкл каждого праймера (10 пикамоль); 0,5 мкл Taq-полимеразы и 18,5 мкл деионизованной воды. В реакции амплификации использовали праймеры к кодирующей части ITS-области рибосомальных генов 5.8S рДНК (ITS1 dir 5'-tccgtaggtgaacctgagg-3'; ITS4 rev 5'-tcctccgcttattgatgc-3').

ПЦР программа для амплификации нуклеотидных последовательностей: денатурация ДНК при 90°С в течение 4 мин, затем: 94 °С — 30 с, 55 °С — 20 с (отжиг праймеров), 72 °С — 40 с, всего — 35 циклов, с заключительным синтезом при 72 °С в течение 7 мин. Размер продуктов амплификации оценивали с помощью электрофореза в агарозном геле.

Секвенирование ДНК проводилось Научно-производственной компанией СИНТОЛ (г. Москва).

Определение фунгицидной активности штаммов бактерий *Pantoea sp* 3.1 *Pantoea sp* 3.2, *Pantoea sp* 3.5.2, *Pantoea sp* 3.6.1 и *Bacillus sp*.

Для определения супрессивных свойств штамма использовали метод лунок Petatan-Sagahon [4]. На агаризованной среде LB в стерильных условиях в центре чашки Петри стерильным сверлом вырезали лунку диаметром 0,8 см. Готовили суспензии фитопатогенных грибов (10⁵ КОЕ/мл), смывая мицелиальную и споровую массу с газонов грибов на среде Чапека стерильной средой LB.

На чашки Петри сеяли газон 100 мкл инокуляты бактерий *Pantoea sp* 3.1 *Pantoea sp* 3.2, *Pantoea sp* 3.5.2, *Pantoea sp* 3.6.1 и *Bacillus sp*. Культивирование проводили при 37 °С в течение 12 часов, затем в лунку вносили 200 мкл спор грибов в среде LB. Культивировали в термостате при температуре 28 °С. Результаты оценивали через 3, 7, 10 суток. Для контроля посев проводили аналогичным способом: по 200 мкл спор грибов в лунку в стерильных условиях на агаризованной среде LB и оценивали результаты.

Ингибирование роста рассчитывали по формуле:

$$\text{Ингибирование (\%)} = [(P-p)/P \times 100],$$

где P — (контрольный показатель) представляет собой радиальный рост гриба в контрольном образце.

p — радиальный рост гриба в комплексе с бактериями.

Таблица 1 — Идентификация изолятов микромицетов

Изолят	Вид	Идентичность
<i>Fusarium</i> sp 1.1	<i>Fusarium solani</i> isolate TVD_Fungal-Culture126	100%
<i>Fusarium</i> sp 1.4	<i>Fusarium tricinctum</i> strain Z5	99%
<i>Fusarium</i> sp 1.6	<i>Fusarium oxysporum</i> strain CEF-06	100%
<i>Fusarium</i> sp 2.9	<i>Fusarium avenaceum</i> strain 1	99%

Результаты и обсуждение

Антагонистические свойства штаммов бактерий *Pantoea* sp 3.1 *Pantoea* sp. 3.2, *Pantoea* sp. 3.5.2, *Pantoea* sp. 3.6.1 и *Bacillus* sp. исследовали по отношению к фитопатогенным микромицетам, предоставленных отделом сельскохозяйственной биотехнологии ГНУ Татарский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии.

Для молекулярной идентификации предоставленных микромицетов анализировали нуклеотидные последовательности ITS-области (internal transcribed spacer) рибосомальных генов 5.8S рРНК. Значительную часть ITS-областей занимают консервативные участки, имеющие идентичный нуклеотидный состав у различных микроорганизмов, и видоспецифичные варибельные участки, нуклеотидный состав которых позволяет идентифицировать микроорганизмы путем сравнения этих последовательностей с аннотированными в базах данных [5].

Проводили амплификацию гена 5.8S рРНК микромицетов со стандартных праймеров ITS1 и ITS4. Электрофорез ПЦР-продуктов представлен на рисунке 1. Проводили секвенирование ПЦР-продуктов и сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей с последовательностями, имеющимися в Генбанке, при помощи алгоритма BLAST.

Биоинформационный анализ при помощи алгоритма BLAST позволил установить видовую принадлежность исследуемых штаммов микромицетов (таблица 1).

Таким образом, выделенные фитопатогенные микромицеты идентифицированы и могут использоваться в качестве тест-объектов.

Исследование фунгицидной активности штаммов

Луночным методом Petatan-Sagahon на агаризованной среде LB было установлено, что *Pantoea* sp 3.1

Pantoea sp. 3.2, *Pantoea* sp. 3.5.2, *Pantoea* sp. 3.6.1 и *Bacillus* sp обладают способностью к ингибированию роста микромицетов (рисунок 2). В качестве контроля использовали посев микромицетов без бактериального роста.

Штаммы *Pantoea* sp. 3.1 и *Bacillus* sp. обладали максимальной ингибирующей способностью по отношению ко всем видам *Fusarium* — рост микромицета в присутствии бактериальных изолятов ингибировался на 80–87% (рисунок 2). Высокий ингибирующий эффект (от 58% до 87%) все исследуемые бактерии проявляли по отношению ко всем исследуемым представителям рода *Fusarium* — *F. solani* возбудителя корневой гнили и трахеомикозного увядания, *F. tricinctum*, поражающего колоса зерновых культур, *F. oxysporum*, вызывающего вилт и увядание, *F. avenaceum*, вызывающего фузариоз зерна.

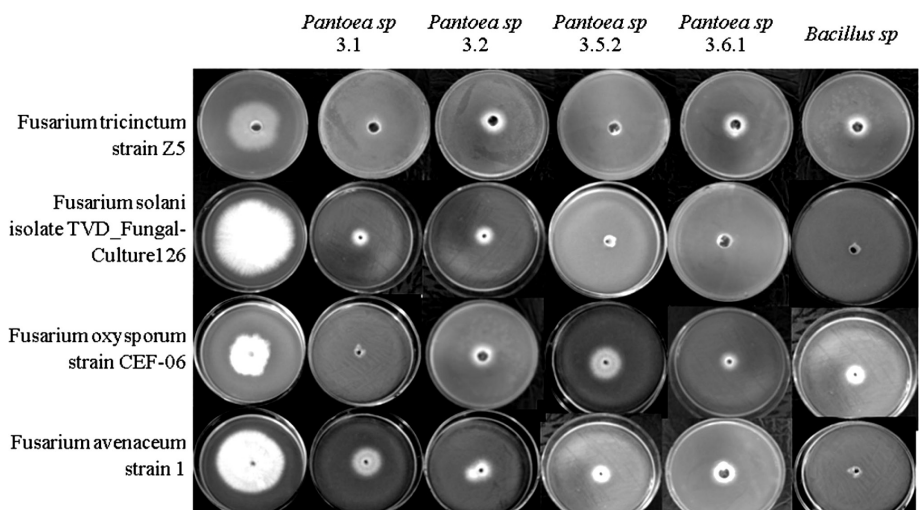
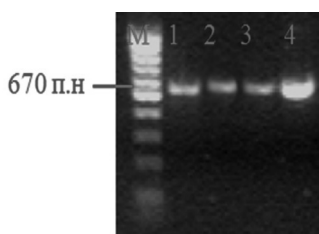
Экспериментально установлено, что ризосферные штаммы бактерий в процессе роста образуют фунгицидное соединение, с активным действием по отношению к микромицетам-фитопатогенам род *Fusarium*. Наличие фунгицидной активности у штаммов *Pantoea* sp 3.1 *Pantoea* sp. 3.2, *Pantoea* sp. 3.5.2, *Pantoea* sp. 3.6.1 и *Bacillus* sp может служить перспективой для создания эффективных биопрепаратов и средств защиты растений от данных фитопатогенов.

Список литературы

1. Глик, Б. Биоконтроль патогенных микроорганизмов [Текст] / Б. Глик, Дж. Пастернак // Молекулярная биотехнология, принципы и применение.- М.: Мир., 2002. — 590с. ISBN: 5-03-003328-9
2. Власов, Д.Ю. Микромицеты в литобионтных сообществах: разнообразие, экология, эволю-

Рисунок 2 — Культивирование штаммов на агаризованной среде LB, слева в качестве отрицательного контроля (К) использовали среду с микромицетом без бактериального роста

Рисунок 1 — Электрофорез ПЦР-продуктов генов 5.8S рРНК микромицетов. М-маркер; 1- *Fusarium* sp. 1.1; 2 — *Fusarium* sp. 1.4; 3 — *Fusarium* sp. 1.6; 4 — *Fusarium* sp. 2.9



- ция, значение. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.24 / Власов Дмитрий Юрьевич. — СПб, 2008. — 36 с.
- Liu, D. Rapid Mini-Preparation of Fungal DNA for PCR [Text] / D. Liu, S. Coloe, R. Baird, J. Pedersen // J. Clin. Microbiol. January 2000 vol. 38 no. 1 471
 - Petatan-Sagahon I. Isolation of Bacteria with Antifungal Activity against the Phytopathogenic Fungi *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora* [Text] / I. Petatan-Sagahon, M.A. Anducho-Reyes, H.V. Silva-Rojas, A. Arana-Cuenca, A. Tellez-Jurado, I.O. Cardenas-Alvarez, Y. Mercado-Flores, Int J Mol Sci. 2011-PMC3189730.
 - Казеев К.Ш. Биологическая диагностика и индикация почв: [Текст] / К.Ш. Казеев // Методология и методы исследований / К.Ш. Казеев, С.И. Вальков, В.Ф. Колесников // Ростов н/Д: Изд-во РГУ, 2003. с. 216 УДК 631.4:577.4:502.7; с. 113–119.

ЭНДОФИТНЫЕ ДРОЖЖИ В СОЧНЫХ ПЛОДАХ *MALUS DOMESTICA*

Качалкин А.В.^{1,2}, Глушакова А.М.¹, Венжик А.С.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

²Всероссийская коллекция микроорганизмов,

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Яблоня (*Malus* Mill.) широко распространена в самых различных эколого-географических зонах и является одной из самых значимых плодовых культур, в настоящее время в мире насчитывается более 15 тысяч сортов яблони. Различные сорта *Malus domestica* успешно используется для промышленного возделывания, культивируются в частных садах, а также используются для озеленения городских населенных пунктов. Особый интерес плоды *Malus* представляют, как объект изучения в связи с развитием новых технологий хранения и транспортировки сочных плодов [1]. В связи с этим большое значение имеют исследование эндофитных микробных сообществ плодов яблони, обязательным компонентом которых являются дрожжевые грибы. Из перикарпа сочных плодов *Malus* неоднократно были выделены штаммы дрожжей, обладающие выраженной фунгицидной активностью против фитопатогенов (*Botrytis cinerea*, *Monilia* sp., *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum capsici* и др.). К ним относятся штаммы эндофитных дрожжей *Metschnikowia puicherrima*, *M. sinensis*, *Debaryomyces hansenii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Hanseniaspora* sp., *Aureobasidium pullulans* и др. [2–5]. Таким образом, исследования эндофитных дрожжей в сочных плодах на примере яблок продолжает оставаться актуальным не только для решения фундаментальных вопросов, касающихся взаимодействия микроорганизмов и растений, но и в связи с практическими аспектами для нужд сельского хозяйства.

Цель работы — исследование эндофитных дрожжевых сообществ сочных плодов *Malus domestica*, выращиваемых промышленно в ряде регионов России, на приусадебных участках и произрастающих в различных биотопах городской среды (г. Москва).

Плоды для исследования численности и видового состава эндофитных дрожжей покупались в торговых сетях (поставки из Курской обл., Московской обл., Смоленской обл.), отбирались на приусадебных участках (Владимирская обл., Московская обл.) и в черте Москвы (усадебка «Кусково», м-н Рублево, 2 Карачаровская ул., ул. Вешних вод, Малый Казенный пер., Каширское ш., Перовское ш., Ярославское ш., Садовое кольцо). Отдельно исследовали эндофитное население

семян. Общее содержание сахаров в плодах (в перикарпии) определяли с помощью рефрактометра Milwaukee MA871. За два периода исследований (2015 год [6] и 2019 год) было изучено 525 образцов. Для выделения дрожжей использовали метод посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (ГРПА) с хлорамфениколом. Видовую идентификацию дрожжевых грибов проводили на основе анализа нуклеотидных последовательностей ITS и/или D1/D2 доменов 26S региона рДНК.

Эндофитные дрожжи были обнаружены в 80% исследованных образцов, используя стандартный метод микробиологического посева из разведения 1:10. Полученные результаты показали, что динамика численности эндофитных дрожжей в процессе созревания плодов характеризуется незначительными колебаниями численности в пределах 2.5×10^3 КОЕ/г на первых стадиях созревания плодов течение летнего периода, затем на конечной стадии созревания численность эндофитов резко возрастает до 10^4 КОЕ/г [6]. При более детальном исследовании дрожжевого населения зрелых плодов обнаружено, что численность дрожжей в сочной мякоти достоверно зависит от концентрации сахаров: при содержании сахаров 7–12 °Вх средняя численность дрожжей составляла $5.9 \pm 1.1 \times 10^3$ КОЕ/г, а при содержании 12–18 °Вх — $9.5 \pm 1.2 \times 10^3$ КОЕ/г. Средняя численность дрожжей в семенах яблок была $7.2 \pm 1.1 \times 10^3$ КОЕ/г. Достоверных различий в численности эндофитных дрожжей от места сбора яблок обнаружено не было.

Видовое разнообразие эндофитных дрожжей, выделенных в ходе проведенного исследования из сочной мякоти и из семян, составило 30 видов: 13 видов аскомицетовых дрожжей и 17 — базидиомицетовых (табл.). Из внутренних тканей плодов и из семян наиболее часто выделялись виды: *Aureobasidium pullulans*, *Candida parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *Cystofilobasidium capitatum*, *Filobasidium wieringae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima* и *Yarrowia* spp. Доля аскомицетовых и базидиомицетовых дрожжей в перикарпии не зависела от общего содержания сахаров и определялась конкретными условиями произрастания.

Таблица. Частота встречаемости дрожжевых грибов в исследованных плодах

Гриб	Перикарп	Семя
<i>Aureobasidium pullulans</i>	15.3	22.5
<i>Bullera alba</i>	0.3	0.7
<i>Candida parapsilosis</i>	41.4	16.9
<i>Candida zeylanoides</i>	12.3	42.3
<i>Cystobasidium</i> sp.	4.3	4.2
<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	32.5	46.5
<i>Cystofilobasidium macerans</i>	3.7	4.9
<i>Debaryomyces hansenii</i>	3.7	1.4
<i>Dothiora sorbi</i>	0.9	–
<i>Filobasidium magnum</i>	8.0	4.9
<i>Filobasidium wieringae</i>	12.9	7.0
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	30.4	40.1
<i>Kwoniella endophytica</i>	0.3	–
<i>Kwoniella pini</i>	0.9	1.4
<i>Leucosporidium scottii</i>	5.8	6.3
<i>Metschnikowia chrysoperlae</i>	0.3	1.4
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	41.7	60.6
<i>Moesziomyces aphidis</i>	3.4	2.1
<i>Papiliotrema</i> sp.	0.3	–
<i>Pichia kluyveri</i>	4.9	–
<i>Rhodospordiobolus colostri</i>	1.2	–
<i>Rhodotorula babjevae</i>	2.1	9.2
<i>Rhodotorula glutinis</i>	3.1	–
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	4.0	0.7
<i>Vishniacozyma tephrensensis</i>	0.3	–
<i>Vishniacozyma carnescens</i>	0.9	2.8
<i>Yarrowia deformans</i>	7.7	19.0
<i>Yarrowia divulgata</i>	3.4	9.2
<i>Yarrowia galli</i>	4.0	16.2
<i>Yarrowia lipolytica</i>	7.7	19.0

Среди списка наиболее часто обнаруживаемых в яблоках видов дрожжей отдельного внимания заслуживает *C. parapsilosis*. Этот вид относится к группе клинически значимых оппортунистических дрожжей, входит в состав обычной микрофлоры кожи здоровых людей, выделяется из пораженной микозами кожи, при нарушении иммунитета вызывает поражение кожи и слизистых [7]. Данный вид ранее уже обнаруживался в дрожжевом населении плодов яблонь и груш, произрастающих на территории городских парков [6]. Дополнительный анализ плодов из других биотопов г. Москвы и с приусадебных участков показал, что наибольшие значения частоты встречаемости *C. parapsilosis* отмечены для городских автомагистралей — 41.5% и городских насаждений — 24.6%, для приусадебных участков и садов Московской области — 8.3%. Среди образцов яблок из торговых сетей данный вид обнаружен не был.

Внутренние ткани сочных плодов являются также местом обнаружения новых видов дрожжевых грибов.

Из перикарпа груш, яблок и других сочных плодов, произрастающих на территории г. Москвы, был выделен и описан новый вид *Kwoniella endophytica* А.М. Glushakova et Kachalkin [8]. В ходе текущих исследований были обнаружены штаммы новых видов дрожжей из родов *Cystobasidium* (КБП Y-6425) и *Papiliotrema* (КБП YE-0283) филогенетически близкие к видам *Cys. benthicum* и *Pa. aurea*, соответственно. Собранная коллекция дрожжей-эндофитов, помимо новых таксонов, включает в себя виды, которые ранее рассматривались в качестве антагонистов фитопатогенов [2–5] и продуцентов растительных фитогормонов [9, 10]. Таким образом, проведенное исследование делает возможным более детальное изучение биотехнологического потенциала дрожжей-эндофитов и их использование в качестве биоконтроля развития фитопатогенов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-74-10002.

Список литературы

- Doty S.L. Endophytic yeasts: biology and applications // Symbiotic Endophytes / Ed. Aroca R. Springer, 2013. P. 335–343.
- Saravanakumar D., Ciavarella A., Spadaro D. et al. *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 outcompetes *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* in apples through iron depletion // Postharvest Biol Technol. 2008. V. 49(1). P. 121–128.
- Gross S., Kunz L., Müller D.C. et al. Characterization of antagonistic yeasts for biocontrol applications on apples or in soil by quantitative analyses of synthetic yeast communities // Yeast. 2018. V. 35(10). P. 559–566.
- Zhang D., Spadaro D., Valente S. et al. Cloning, characterization and expression of an exoglucanase gene from the antagonistic yeast, *Pichia guilliermondii* against grey mold on apples // Biological Control. 2011. V. 59. P. 284–293.
- Pawlikowska E., James S.A., Breierova E. et al. Biocontrol capability of local *Metschnikowia* sp. isolates // Antonie Van Leeuwenhoek. V. 112(10). P. 1425–1445.
- Глушакова А.М., Качалкин А.В. Эндофитные дрожжи в сочных плодах *Malus domestica* и *Pyrus communis* в условиях антропогенезации // Микробиология. 2017. Т. 86. № 1. С. 114–122.
- Van Asbeck E.C., Clemons K.V., Stevens D.A. *Candida parapsilosis*: a review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility // Crit. Rev. Microbiol. 2009. V. 35. P. 283–309.
- 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.
- Стрелецкий Р.А., Качалкин А.В., Глушакова А.М. и соавт. Определение 3-индолилуксусной кислоты у дрожжей с использованием масс-спектрометрического метода // Микробиология. 2016. Т. 85, №6. С. 713–721.
- Streletskii R.A., Kachalkin A.V., Glushakova A.M. et al. Yeasts producing zeatin // PeerJ. 2019. V. 7. e6474.

ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA* НА НАКОПЛЕНИЕ СВОБОДНОГО ПРОЛИНА В РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Кинчарова М.Н.

Самарский государственный аграрный университет

Растительные организмы в природных условиях часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов внешней среды как абиотической, так и биотической природы. Среди биогенных воздействий на растение картофеля также можно отметить инфицирование его различными патогенными грибами.

В результате у растений развиваются первичные защитные механизмы, интенсивность которых в значительной степени зависит от активности путей сигнальной индукции.

Изучение особенностей метаболизма растений при патогенезе является важным условием для понимания механизмов как поражения растения патогеном, так и его устойчивости при инфицировании. Известно, что при патогенезе возникают различные нарушения в обмене веществ растительной клетки [3]. При этом значительные изменения претерпевают ее мембранные и белковые компоненты.

Различными исследователями выделяется группа «стрессовых» аминокислот, принимающих участие в адаптивном ответе растительного организма на стрессоры. Их содержание существенно повышается при различных воздействиях на организм, в том числе и на внедрение патогена [4].

Показано, что при стрессирующих воздействиях в клетках растений активируется синтез белков стресса, возрастает содержание растворимых углеводов, стабилизирующих цитоплазму, а также свободной аминокислоты пролина [6].

Пролин — аминокислота, которая обнаруживается в растительных и животных белках, а также имеет особое значение в качестве свободной аминокислоты — маркера стрессовых состояний у растений. Так, накопление свободного пролина обнаруживается в тканях растений, подвергнутых воздействию высоких и низких температур, засоления, дефицита влаги, техногенных загрязнителей.

Поскольку на клеточном уровне пролин защищает ферменты и внутриклеточные структуры, регулирует рН цитозоля, инактивирует свободные радикалы [5], повышение его содержания важно в условиях стресса.

Пролин обладает осморегуляторным действием, а также способностью предотвращать инактивацию ферментов и повреждение клеточных мембран и органелл. Кроме того, пролин контролирует экспрессию генов стрессорных белков, является источником азота, углерода и восстанавливающих соединений, а также обладает антиоксидантным действием.

Азот пролина может составлять более половины азота всех свободных аминокислот, а сам он легко вовлекается в окислительные процессы даже при наличии углеводов [2].

Одно из серьезных заболеваний листьев картофеля — альтернариоз (ранняя сухая пятнистость, макроспориоз, сухая концентрическая пятнистость, бурая пятнистость) встречается по всей территории возделывания картофеля. На большей части ареала оно имеет экономическое значение [8].

Вредоносность альтернариоза определяется степенью поражения вегетирующей массы, уменьшением ассимиляционной поверхности листьев и изменением физиолого-биохимических процессов в зараженных растениях.

Наши исследования были направлены на изучение изменений физиолого-биохимических процессов в растениях картофеля при поражении их *Alternaria sp.*, в том числе и на накопление свободного пролина при естественном инфицировании.

Для изучения были взяты 42 сорта картофеля отечественной и зарубежной селекции, разной группы спелости. В дальнейшем исследовали сорта со средней, наименьшей, наибольшей и часто встречаемой степенью поражения.

Распространенность альтернариоза устанавливали визуально по характерным симптомам на ботве сразу же после появления болезни на растениях. Степень поражения определяли в соответствии со стандартной шкалой [1]:

- 0 баллов — симптомы поражения отсутствуют;
- 1 балл — поражение от 1 до 10% поверхности листьев в виде единичных пятен на отдельных растениях;
- 2 балла — поражено от 10 до 25% поверхности листьев;
- 3 балла — от 25 до 50% поверхности листьев картофеля;
- 4 балла — более 50% площади листовой поверхности всех растений;
- 5 баллов — все листья растений полностью поражены.

Содержание свободного пролина в листьях картофеля определяли по Bates et al. (1973). Для этого отбирали хорошо развитые листья картофеля с растений с разной степенью поражения альтернариозом на нескольких сортах различных групп скороспелости. Исследования проводили с момента появления первых симптомов болезни и затем с периодичностью в десять дней.

В наших исследованиях количество свободного пролина значительно варьировало в зависимости от сорта, его устойчивости или восприимчивости к возбудителю заболевания и от погодных условий года. А именно в годы, отличающиеся теплыми и влажными, то есть благоприятными для картофеля, условиями в период вегетации заражение растений картофеля сорта Космос альтернариозом повышало содержание свободного пролина в листьях, сорта Пикассо — понижало, а у восприимчивого сорта Удача на начальных этапах заражения содержание пролина снижалось, а затем по мере развития болезни резко повышалось.

Это может быть связано в той или иной мере с устойчивостью или восприимчивостью сортов к альтернариозу, так как считается, что чем выше степень накопления свободного пролина, тем выше устойчивость растений.

Аналогичные данные по накоплению свободного пролина в растениях картофеля можно увидеть у более

широкого круга сортов, взятых для исследования по этому показателю.

В результате было отмечено, что накопление свободного пролина у разных сортов зависело также от группы спелости, к которой они относятся, и от сложившихся погодных условий. А именно, у ранних сортов стрессовая ситуация на внедрение гриба в растение находится в значительной зависимости от погодных условий. Так, у сорта Удача во влажные и теплые годы содержание свободного пролина постепенно повышалось, а затем по мере усиления поражения до 4–5 баллов резко падало. В засушливых условиях же с увеличением балла поражения снижалось и содержание пролина. При этом отмечено, что у этой группы сортов, как правило, накапливалось наибольшее содержание свободного пролина и, отмечался максимальный балл поражения альтернариозом.

У сорта Каратоп несколько иная тенденция — во влажные годы содержание пролина вначале падает, потом меняется мало на протяжении вегетации. В растениях сорта Ароза пролин повышается по мере заражения независимо от погодных условий. У сорта Розара — до 1 балла падает, а затем стабильно растет.

У среднеранних сортов в основном растения реагируют на заражение до 1 балла одинаково не зависимо от погодных условий (у сортов Невский и Памир — повышается, Космос — понижается содержание свободного пролина), затем с увеличением балла поражения содержание пролина падает.

Среднепоздние сорта реагировали следующим образом: у сортов Расинка и Пикассо накопление свободного пролина в зависимости от поражения альтернариозом в засушливые годы изменяется мало, а в благоприятные годы, как правило, возрастает. У сорта Ресурс во влажные годы содержание пролина возрастает, а в засушливых условиях сначала падает, а затем по мере проникновения гриба растет.

У сорта Голубизна, наоборот, в засушливых условиях устойчиво растет, в благоприятные и относительно благоприятные года падает, а потом по мере увеличения балла поражения растет.

Таким образом, ранние сорта накапливали свободный пролин в большей степени, по отношению к другим сортам. Также у них выявлен максимальный балл поражения альтернариозом.

Соответственно можно сделать вывод, что по мере увеличения площади поражения листа альтернариозом,

оцениваемой в 4 и 5 баллов, как правило, содержание свободного пролина снижается у всех сортов. Это можно объяснить тем, что согласно пищевой специализации возбудитель болезни гриб *Alternaria sp.* является факультативным паразитом и по мере своего развития убивает клетки и к указанному моменту листовая пластинка практически состоит из отмерших участков, а оставшиеся клетки сопротивляются незначительно.

Согласно литературным данным увеличение содержания пролина, говорит об устойчивости, а понижение о восприимчивости сорта к заболеваниям или другим стрессовым факторам. Поэтому при подборе сортов, устойчивых к альтернариозу, для выращивания в условиях Самарской области необходимо проводить комплексную оценку сортов в течение нескольких лет на сортоучастках с использованием также и оценки на накопление свободного пролина.

Список литературы

1. Билай В.И., Элланская И.А. Основные микологические методы в фитопатологии // Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982, 551 с.
2. Бритиков Е.А. Биологическая роль пролина. М., 1975.
3. Дмитриев А.П. Сигнальные молекулы растений для активации защитных реакций в ответ на биотический стресс // Физиология растений. 2003, 50, №3, с. 465–474.
4. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений, 1999, т. 46, с. 321–336.
5. Франко О.Л., Мело Ф.Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений, 2000, 47 (1), с. 152–159.
6. Юркевич Л.Н., Потопольский А.И. Пролин как фактор устойчивости растений к засолению // Физиология и биохимия культурных растений, 1994, 26 (6), с. 600–605.
7. Bates L. S., Waldern R. P., Teare D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. // Plant and Soil, 1973, 39, 205–207.
8. Pscheidt J.W., Stevenson W.R. Early blight of potato and tomato: A literature review. // Wis. Agric. Exp. Stn. Bull. R3376, 1986, 17 p.

ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОМИЦЕТОВ СВЯЗАННЫХ С ЧЕРНИКОЙ ОБЫКНОВЕННОЙ НА СЕВЕРЕ ЕРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Копина М.Б., Сурина Т.А., Уварова Д.А.

«Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), Москва

Существуют разные пути инвазии патогенных микроорганизмов в новые регионы и страны. Большинство вредных организмов проникают на новые территории с семенным и посадочным материалом (продукция с высоким фитосанитарным риском), преднамерен-

ная интродукция также способствует проникновению чужеродных видов в новые регионы. Фитосанитарные обследования как производственных, так и естественных насаждений позволяют своевременно выявить опасные вредные организмы и снизить или минимизи-

ровать вероятность их распространения. В связи с этим, одной из важных задач учреждений, подведомственных Россельхознадзору, является проведение фитосанитарных обследований естественных лесонасаждений на выявление карантинных и особо опасных заболеваний.

Один из наиболее вредоносных патогенов растений рода *Vaccinium*, отсутствующий на территории России, является вид *Diaporthe vaccinii* Shear — возбудитель вязкой гнили черники, включенный в «Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза». Вредоносность болезни заключается в гибели плодоносящих побегов и сокращения урожайности более чем на 65% [1]. Отмечено, что диапазон растений-хозяев данного возбудителя включает все виды рода *Vaccinium*, дикие виды в естественных насаждениях могут быть резервуарами инфекции.

Черника обыкновенная *Vaccinium myrtillus* L. широко представлена в разных типах леса на Севере Европейской части России: ельник черничник, сосняк черничник, березняк черничник, которые являются наиболее распространенными в подзоне южной тайги [2]. В Карелии и вид *V. myrtillus* наиболее часто произрастает в светло- и темнохвойных, а также мелколиственных лесах, где занимает доминирующее и содоминирующее положение в травяно-кустарничковом ярусе [3].

С целью проведения фитосанитарного обследования естественных лесонасаждений, сотрудниками научных подразделений ФГБУ ВНИИКР в 2019 году проведен отбор растительных образцов в следующих точках: Государственный природный заповедник Кивач (Кондопожский район р. Карелия), острова низовья реки Выг, вблизи деревни Выгостров (Беломорский район, р. Карелия), на Большом Соловецком острове в составе архипелага Соловецкие острова (Архангельская область). Отбор образцов проводили маршрутным методом, в каждой точке осматривали по 5–10 растений, от которых отбирали растения с симптомами и формировали средний образец. Наиболее преобладающей симптоматикой в черничниках являлись вытянутые некрозы, переходящие в язвы на молодых побегах, усыхание побегов без опадения листьев, изменение окраски листьев до рыже-бурой, бронзовой, на некоторых растениях черники было отмечено преждевременное опадение листьев, пятнистости. Всего было отобрано и проанализировано 20 образцов. Степень заражения возбудителями и характер проявления болезни на чернике варьировали в зависимости от места отбора образцов. Так, например, для черничников на Большом Соловецком острове была характерно очаговое поражение возбудителями. Тогда как в низовье реки Выг, пораженные растения встречались единично.

Лабораторные исследования проводили классическими биологическими методами: влажная камера, выделение возбудителя на питательную среду, микроскопирование и морфометрия. Видовую идентификацию полученных чистых культур микромицетов проводили по морфологическим признакам, в сочетании с молекулярно-генетическими методами (постановка ПЦР с универсальными праймерами, проведение секвенирования, биоинформационный анализ полученных последовательностей диагностических участков генома). Для определения видовой принадлежности была выбрана комбинация следующих участков генов: вну-

тренний транскрибируемый спейсер ядерной рРНК (ITS) (локус, рекомендованный для баркодирования грибов), гены, кодирующие актин и тубулин [4,5,6].

В результате исследований было установлено, что микобиота надземной части отобранных образцов черники представлена видами *Alternaria*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Phacidium*, *Sporocadus*, *Neocucurbitaria*, *Heterophoma*, *Cytospora*. Из отобранных растительных образцов выделены и идентифицированы 10 видов микромицетов, принадлежащих к 9 родам.

Наиболее часто из пораженных растений выделяли грибы рода *Phacidium*, *Neocucurbitaria*, *Heterophoma*. Из образцов черники, отобранных на территории заповедника Кивач, были выделены возбудители цитоспороза (*Cytospora* sp) и фацидиоза (*Phacidium lacerum* Fr.). Растения, пораженные фацидиозом, характеризовались отмиранием стеблей и листьев, на нижней стороне которых были обнаружены многочисленные плодовые тела гриба.

Из пораженных растений, отобранных на Большом Соловецком острове были выявлены *Neocucurbitaria cava* (Schulzer) Valenz.-Lopez, Crous, Stchigel, Guarro & J.F. Cano и *Heterophoma sylvatica* (Sacc.) Qian Chen & L. Cai. Род *Neocucurbitaria* как самостоятельный таксон был выделен Wanasinghe D.N. с соавторами из семейства *Cucurbitariaceae* в 2017 году. В качестве филогенетических маркеров авторами были использованы участки внутреннего транскрибируемого спейсера, большой и малой субъединиц рДНК. В литературных источниках информация о выявлении вида *N. cava* в естественных насаждениях минимальна. Отмечено, что вид *Pleurophoma cava* синоним *N. cava* был выделен с листьев *Salix* sp. в республике Алтай (Андрианова, 2006).

В ходе проведенных обследований карантинного объекта *Diaporthe vaccinii* на растениях черники не выявлено. Учитывая разнообразие видового состава микромицетов, очаговость проявления некоторых видов фитопатогенов, считаем целесообразным продолжение мониторинга естественных насаждений.

Список литературы

1. Scientific opinion on the pest categorisation of *Diaporthe vaccinii* Shear/EFSA Journal. — 2017. — V. 12. — I. 7 — P. 11–28.
2. Ярославцев, А.В. Морфологические особенности черники обыкновенной, произрастающей в разных типах лесных фитоценозов южной тайги // Мат-лы между. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию ВНИИОЗ. — Киров, 2007. С. 498–499.
3. Морозова КВ, Бормусова НЕ. Черника обыкновенная в еловых сообществах Южной Карелии // Актуальные проблемы лесного комплекса, 2009. С. 99–100.
4. White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, ed. Pcr protocols, a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press. pp. 315–322.
5. Carbone, I., Kohn, L. (1999). A Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes. *Mycologia*, 91(3), 553–556.
6. Groenewald M, Kang JC, Crous PW, Gams W (2001) ITS and β -tubulin phylogeny of *Phaeoacremonium* and *Phaeomoniella* species. *Mycological Research* 105: 651–657.

ФУЗИКОКЦИН А: ЕГО ПОЛУЧЕНИЕ И ДЕЙСТВИЕ В ОТНОШЕНИИ РАСТЕНИЙ, ГРИБОВ И ЖИВОТНЫХ

Краснопольская Л.М.
НИИНА, Москва

Фузикоцин А (ФК А) — метаболит фитопатогенного гриба *Fusicoccum amygdali* Del., вызывающего рак косточковых пород деревьев: персика миндаля, абрикоса. По своей химической природе ФК А представляет собой глюкозид карботрициклического дитерпена, агликоновая часть молекулы которого представлена тремя сопряженными кольцами 5–8–5. Вещества со сходной структурой, названные фузикококканами, присутствуют среди метаболитов грибов и растений.

С точки зрения фитопатологии ФК А является вивотоксином, модулирующим ряд симптомов болезни и вызывающим неспецифическое увядание широкого круга растений. Существует ряд отличий действия ФК А от других грибных токсинов этой группы. ФК А не нарушает полупроницаемости клеточной мембраны, в низких дозах, приводящих к слабому увяданию он не вызывает ультраструктурных изменений в растительных клетках.

ФК А — основной метаболит гриба-продуцента. Среди минорных фузикококцинов можно выделить группу метаболитов-предшественников, отличающихся меньшим содержанием кислорода в агликоновой части молекулы (ФК Н, ФК J) и группу соединений, представляющих собой продукты дальнейших превращений ФК А, в том числе неферментативных (ФК В, ФК С, ФК Д, ФК Е, ФК F).

История изучения ФК А представляет собой пример того, как по мере получения фундаментальных знаний о механизме его действия возникают новые важные направления применения этого соединения. Долгое время ФК А рассматривали как регулятор роста и развития растений, что было связано с установлением его высокой и многосторонней фитогормоноподобной активности, в основе которой лежит активация плазмалеммной H^+ -АТФазы, активации электрогенной протонной помпы. ФК А способен активировать транспорт ионов через клеточные мембраны, повышать устьичную и кутикулярную транспирацию, открывать устьица в темноте и на свету, стимулировать рост растяжением изолированных органов и тканей растений, индуцировать прорастание семян и образование корней, снимать неблагоприятное действие физических и химических стрессоров.

ФК А в наших экспериментах показал способность регулировать процессы плодообразования у *Agaricus bisporus*, приводящей к общему увеличению его урожайности. В зависимости от концентрации ФК А драматически менялись размер и количество базидиом, т. е. шампиньон двуспоровый формировал либо большее количество мелких плодовых тел, либо единичные базидиомы, отличающиеся большой массой.

Проведенное нами сравнительное изучение индивидуальных фузикококцинов на растительных моделях показало, что ряд из них обладает высокой фитогормоноподобной активностью. Выявленные различия лежали в широте спектра изучаемой активности. К соединениям с широким спектром действия наряду с ФК

А были отнесены ФК С и J, узким спектром действия и высокой активностью отличался ФК Н. Полученные результаты позволили выявить зависимость активности фузикококцинов в отношении растений от строения их молекулы.

Полученные результаты послужили основанием для проведения биотехнологических работ. Для наиболее перспективных фузикококцинов нами были разработаны биотехнологии их получения, апробированные в пилотных условиях. Организмическое получение препарата ФК А позволило провести успешное изучение возможностей его применения в сельском хозяйстве, прежде всего в качестве антистрессового агента.

Молекулярные исследования ФК А, проведенные в последние два десятилетия, показали, что наблюдаемая активация протонной помпы происходит благодаря обеспечиваемой ФК А стабилизации взаимодействия H^+ -АТФазы и регуляторных белков 14–3–3 (Camoni et al., 2019). Белки 14–3–3 в виде своих многочисленных изоформ присутствуют в клетках всех эукариот, участвуя в регуляции клеточного деления и роста, дифференцировки, апоптоза, работы ионных каналов, активности ферментов. Они участвуют в контроле субклеточной локализации связывающихся с ними белков-партнеров и стимулируют межбелковые взаимодействия, в том числе с киназами, фосфатазами, и трансмембранными рецепторами. Полученная информация о молекулярных механизмах действия ФК А позволила перейти к изучению его влияния на клетки млекопитающих.

Было показано, что ФК А способен подавлять пролиферативную и инвазионную активность клеток мультиформной глиобластомы человека, в том числе ее штаммов, проявляющих устойчивость к ряду проапоптотических факторов. По мнению авторов, эти результаты могут быть частично объяснены тем, что ФК А ингибирует активность 13 изученных в данной работе тирозинкиназ, включая киназу с фокальной адгезией (Bury et al., 2013)

Каплан с соавторами (2017) определили важную роль белков 14–3–3 в регуляции роста аксонов и показали, что ФК А воздействует на аксоны корковых эмбриональных нейронов крысы, вызывая их рост *in vitro* и регенерацию *in vivo*. Эффект связан с тем, что ФК А стабилизирует взаимодействие белка 14–3–3 с регулятором реакции на стресс GCN1.

В состав нашего научного коллектива, занимавшегося комплексным изучением *F. amygdali* и индивидуальных фузикококцинов в разное время входили к.х.н. В.Л. Садовская, к.б.н. М.С. Горбатюк, к.б.н. М.А. Приеде, к.б.н. Л.А. Нагубнова, к.б.н. Р.Ю. Аре.

Список литературы

1. Camoni L., Visconti S., Aducci P., Marra M. From plant physiology to pharmacology: fusicoccin leaves the leaves // *Planta*, 2019. — 249. — N 1. — P. 49–57.
2. Bury M., Andolfi A., Rogister B., Cimmino A., Mégalizzi V., Mathieu V. et al. Fusicoccin A, a Phytotoxic

Carbotricyclic Diterpene Glucoside of Fungal Origin, Reduces Proliferation and Invasion of Glioblastoma Cells by Targeting Multiple Tyrosine Kinases // *Transl Oncol.*, 2013. — V 6. — N 2. — P. 112–123.

3. Kaplan A., Morquette B., Kroner A., Leong S.Y., Madwar C., Sanz R. et al. Small-molecule stabilization of 14–3–3 protein-protein interactions stimulates axon regeneration // *Neuron*, 2017. V 93. — P. 1082–1093.

ВЛИЯНИЕ ГЛОБАЛЬНОГО ПОТЕПЛЕНИЯ НА ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ

Левитин М.М.

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

Глобальное потепление это процесс повышения среднегодовой температуры Земли. Сегодня факт глобального потепления не вызывает сомнений. Русская служба Би-би-си (BBC News) прогнозирует, что 2020 год может стать шестым подряд в списке самых жарких лет за всю историю наблюдений. Как при глобальном потеплении будут вести себя фитопатогенные грибы?

Неизбежно распространение на север южных заболеваний. Это наблюдается уже сегодня. Желтая пятнистость листьев пшеницы (возбудитель гриб *Pyrenophora tritici-repentis*) локализовался на юге европейской части страны. В северных широтах заболевание не встречалось до 2005 г. Однако в 2005–2006 гг. желтая пятнистость была обнаружена на производственных посевах пшеницы в Ленинградской, Псковской и Новгородской областях (1). Основное местонахождение гриба *Puccinia striiformis* — возбудителя желтой ржавчины пшеницы это предгорья Северного Кавказа. В 2005–2006 гг. возбудитель был обнаружен на посевах пшеницы в Ленинградской области. Исторически основное местонахождение в России гриба *Fusarium graminearum* Северный Кавказ и Дальний Восток. Однако, начиная с 2003 г, он появился на территории Северо-Запада России (2).

F. graminearum стал доминирующим видом на зерновых в Нидерландах (3), Англии (4), Северной Германии (5) и Финляндии (6). Септориоз пшеницы на Северо-Западе обычно вызывал вид *Parastagonospora nodorum*. Однако в жарком 2007 году септориоз в этом регионе вызвал южный вид *Zymoseptoria tritici* (7). Гриб *Ramularia collo-cygni* распространен в основном в южных странах. В 2011 г. он был обнаружен на ячмене Краснодарском крае (8), а в 2013 г. в Архангельской области в окрестностях Котласа. Приведенные примеры указывают на то, что при потеплении климата может произойти расширение ареала теплолюбивых видов фитопатогенных грибов.

Изменения климата может привести к смене доминирования видового состава грибов непосредственно в одном локальном месте и в течение одного года. По данным чешских ученых (9) смена доминирования видов происходила ежегодно в зависимости от температуры воздуха. В самый теплый 2009 г. на пшенице доминировал вид *Alternaria triticina*, в 2010 году доминировала *Septoria tritici*, в 2011 г. *Puccinia triticina*, в 2012 г. виды рода *Pyrenophora*, в 2013 г. *S. tritici* и *Pyrenophora tritici-repentis*.

Изменения климата может сказаться на динамике развития заболевания, в частности на латентном периоде развития болезни. Увеличение температуры от 5,2 до 19,3° уменьшало латентный период развития возбу-

дителя септориоза *Zymoseptoria tritici* на восприимчивых к болезни сортах пшеницы (10).

Повышение температуры может привести к усилению агрессивности патогенов. Имеются данные об усилении агрессивности ржавчинных грибов (11). В частности, появились более агрессивные расы возбудителя желтой ржавчины пшеницы гриба *Puccinia striiformis*, усилилась агрессивность возбудителей монилиоиза плодовых культур грибов *Monilinia fructicola*, *M. laxa*, *M. fructigena* (12). Разную агрессивность проявляли почвенные грибы при изменении температуры. Так, гриб *Phytophthora capsici* проявлял высокую агрессивность при инокуляции проростков перца при температуре 30° С, *Fusarium oxysporum* при температуре 25° С, а гриб *Rhizoctonia solani* при температурах от 22 до 30° С был авирулентен (13). В прохладных субтропических зонах повышение температуры будет способствовать увеличению вредоносности возбудителя пирикулярноза риса — гриба *Magnaporthe grisea* (14). На фоне засушливости климата в Предкамье Республики Татарстан увеличилась пораженность пшеницы септориозом листьев, корневыми гнилями и болезнями колоса (15).

Изменение климата скажется и на взаимоотношениях растений и паразитов. Температура может оказать серьезные последствия на эффективность генов устойчивости. Например, повышение температуры выше 20° может привести к инактивации генов устойчивости к стеблевой ржавчине сортов овса с генами Pг3 и Pг4 (16).

В заключении следует сказать, что изменение климата ставит необходимость обратить особое внимание на биоэкологические особенности фитопатогенных грибов. У каждого фитопатогенного гриба существует оптимальная температура для роста и развития. Обычно, она находится в пределах 24–28°С. У некоторых видов максимум превышает 40°С, например, для спор *Ustilago avenae* она находится в пределах 50–53°С (17). Потеплению климата, несомненно, приведет к распространению термотолерантных и ксерофильных (устойчивых к засухе) грибов. Изменение климата может повлиять на половую репродукцию патогенов, тем самым увеличивая эволюционный потенциал популяций (18). Для одних грибов, как например, для возбудителя желтой ржавчины пшеницы *Puccinia striiformis* повышение температуры будет отрицательно сказываться на жизненном цикле гриба, для других, например, для *Fusarium pseudograminearum* — положительно (19). Изменение климата, несомненно, негативно отразится на экосистемах. Настало время активизировать исследования, связанные с глобальным потеплением, чтобы

понять какие изменения нас ждут в географическом распространении грибов, как климат будет влиять на вирулентность и агрессивность патогенов, на взаимоотношения паразитов и растений, на иммунитет растений к болезням и, в целом, на агроэкосистему.

Список литературы

1. Гультяева Е. И., Левитин М. М., Семенякина Н.Ф., Никифорова Н. В., Савельева Н. И. Болезни зерновых культур в Северо-Западном регионе России. Защита и карантин растений. 2007. (6): 15–16.
2. Гагкаева Т. Ю., Левитин М. М., Санин С. С., Назарова Л. Н. Зараженность зерна и видовой состав грибов рода *Fusarium* на территории РФ в 2004–2006 годах. Агро XXI. 2009. (4–6): 3–5.
3. Waalwijk C., Kastelein P., De Vries, Ker Z., Van Der Lee T., Hesselink T., Kohl J., Kema G. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. *Europ. J. Plant Pathol.* 2003, 109 (7): 743–754.
4. Jennings P., Coates M. E., Walsh K., Turner J. A., Nicholson P. Determination of deoxynivalenol- and nivale-nol-producing chemotypes of *Fusarium graminearum* isolates from wheat crops in England and Wales. *Plant Pathol.* 2004, 53 (5): 643–652.
5. Miedaner T., Cumagun C.J. R., Chakraborty S. Population genetics of three important heat blight pathogens *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* and *F. culmorum*. *J. Phytopathol.* 2008, 156 (3): 129–139.
6. Yli-Mattila T., Gagkaeva T. Molecular chemotyping of *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, and *F. cerealis* isolates from Finland and Russia. In book: *Molecular Identification of Fungi*. Ed. by Y. Gherbawy and K. Voigt. Springer Berlin Heidelberg, 2010:159–177.
7. Гультяева Е.И., Левитин М.М., Семенякина Н.Ф., Никифорова Н.В., Казакевич Е.В. Фитосанитарная ситуация на посевах зерновых культур в Северо-Западном регионе. Защита и карантин растений. 2008, (5):50–51. септориоз
8. Афанасенко О.С., Хэвис Н., Беспалова Л.А., Аблова И.Б., Марьенко В.И. Рамуляриоз — новая для России болезнь ячменя. Защита и карантин растений, 2012, (1): 11–13.
9. Hýsek J, Vavera R, Růžek P. Influence of temperature, precipitation, and cultivar characteristics on changes in the spectrum of pathogenic fungi in winter wheat. *J. Biometeorol.* 2017, 61(6):967–975.
10. Chungu C. *Septoria tritici* blotch development as affected by temperature, duration of leaf wetness, inoculums concentration, and host. *Plant Dis.*, 2001, 85 (4): 430–435.
11. Juroszek P., Tiedemann A. V. Potential strategies and future requirements for plant disease management under a changing climate. *Plant Pathol.* 2011, 60 (1):100–112.
12. Mari M., Martini C. Possible effects of climate changes on plant diseases. *Proceedings 50th Croatian and 10th Internatikonol Symposium of Agriculture*. Opatija. Croati, 2015, 37–41.
13. Ezziyyani M., Hamdache A. et al. Effect of Climate Change on Growth, Development and Pathogenicity of Phytopathogenic Telluric Fungi: Methods and Protocols. In book: *Multiple Myeloma*, 2019, p. 14–21. DOI: 10.1007/978-3-030-11878-5_2.
14. Luo Y., Tebeest D.O., Teng P.S., Fabelar N.G. Simulation studies on risk analysis of rice leaf blast epidemics associated with global climate change in several Asian countries. *J. of Biogeography*. 1995, (22): 673–678.
15. Колесар В.А., Зиганшин А.А., Сафин Р.И. Оценка влияния агроклиматических изменений на развитие болезней яровой пшеницы в Предкамье республики Татарстан. *Зерновое хозяйство России*. 2017, 2 (50): 45–47.
16. Martens J.W., McKenzie R.H., Green G.J. Thermal stability of stem rust resistance in oat seedlings. *Can. J. Bot.* 1967, (45): 451–458.
17. Ячевский А. А. Основы микологии. М. Л., 1933.
18. Legler S.E., Caffi T., Rossi V. A nonlinear model for temperature-dependent development of *Erysiphe necator* hamathecia on grapevine leaves. *Plant Pathol.* 2012, (61): 96–105.
19. Luck J., Spackman M. Freeman A., Trebicki P., Griffiths W., Finlay K. Chakraborty S. Climate Change and diseases of food crops. *Plant Pathology*. 2011. 60 (1): 113–121.

КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГРИБОВ РОДА *HERICIUM*

Ломберг М. Л.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

Грибы рода *Hericium s.l.* принадлежат к экологической группе дереворазрушающих грибов и являются возбудителями белой гнили. В основном это грибы-сапротрофы, которые также могут проявлять слабофитопатогенные свойства. Виды *H. coralloides*, *H. clathroides* и *H. erinaceus* развиваются на осине, дубе, буке, березе. Чаще всего *H. erinaceus* встречается на мертвой древесине лиственных пород деревьев (также на орехе, клене, платане), но может расти и на живой. Пихта является субстратом для *H. abietis* и *H. flagellum*. Плодовые тела *H. cirrhatum* чаще можно встретить на березе, дубе, грабе, буке.

Грибы рода *Hericium* издавна использовали в народной медицине и кухне стран Юго-Восточной Азии (прежде всего, Китая и Японии). В настоящее время *H. erinaceus* — съедобный лекарственный гриб, который культивируют в промышленных масштабах. Его плодовые тела содержат ряд полисахаридов с противовоспалительными свойствами, повышающие иммунитет путем стимулирования роста численности Т-клеток и макрофагов [2]. Известные активные ингредиенты, выделенные из мицелия *H. erinaceus* — гериценоны и эринацины являются стимуляторами роста и регенера-

ции отростков нервных клеток, координируют функции нейронов, а целый ряд эринацинов показали сильную биологическую активность, отвечающую за синтез факторов роста нервов [3].

Исходя из перспективности использования данных видов в биотехнологии, целью данной работы было исследование скорости роста грибов, их морфологии, селективности отдельных питательных сред и отбор перспективных штаммов.

Объектами исследований были чистые культуры разного географического происхождения из Коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники имени М.Г. Холодного НАН Украины (ІВК) [4–6]. Был изучен рост 21 штамма шести видов грибов рода *Hericium* на 12 стандартных и модифицированных агаризованных питательных средах различного состава: натуральных — солодовый агар (8° по Баллингу) (СА), СА с добавлением 3% опилок дуба (СА+Д), 5% хвои (СА+Х), 10% отвара кориандра (СА+К), овсяный (ОА) и пшеничный агар (ПА), а также комплексных — мальц — экстракт агар (МЕА), мальц — экстракт — пептонный агар (МРА), мальц — экстракт — пептон — дрожжевой агар (МУРА), картофельно-глюкозный (КГА), картофельно-декстрозный (РДА) и глюкозо-пептон-дрожжевой агар (ГПДА). Все среды готовили и стерилизовали по общепринятым методикам. Выращивание проводили на чашках Петри при $26\pm 1^\circ\text{C}$ в темноте. Для получения генеративной стадии гриба после полной колонизации мицелием чашки помещали в условия дневного освещения. Расчеты скорости роста проводили согласно описанной ранее методике. Микроструктуры вегетативного мицелия штаммов исследованных видов изучали в световом и сканирующем электронном микроскопе [7].

Показано, что для всех исследованных видов рода *Hericium* было характерно наличие многочисленных пряжек, анастомоз, хламидоспор и многочисленных кристаллов различной формы. Вегетативный мицелий исследованных видов состоял преимущественно из разветвленных, регулярно септированных неокрашенных генеративных гиф. Характерной особенностью видов *H. abietis* было образование игольчатых кристаллов, *H. flagellum* — многочисленных терминальных и интеркалярных хламидоспор, кубических кристаллов и мицелиальных колец. У штаммов *H. coralloides* отмечено формирование многочисленных пряжек по типу медальона, кристаллов различной формы, анастомоз и хламидоспор, мицелиальных колец и конидиального спороношения [8].

На всех питательных средах росли колонии белого цвета, со временем приобретавшие кремовый или коричневый оттенок. Реверзум колоний со временем желтел или становился желто-коричневым. На разных питательных средах наблюдали образование плодовых тел, что позволило нам верифицировать исследованные культуры. Следует отметить, что все виды и штаммы образовывали стадию телеоморфы на тех или иных средах, что является надежным критерием их идентификации в культуре. Так, штаммы *H. erinaceus* — на большинстве питательных сред (СА, СА+Д, СА+К, СА+Х, МРА, МУРА, МЕА), чуть хуже плодоносили штаммы *H. coralloides* (СА, СА+Д, СА+К, СА+Х, МРА, МУРА), *H. clathroides* (СА, СА+Д, СА+Х, МРА),

H. cirrhatum (СА+Д, СА+К, СА+Х, МРА, МУРА, МЕА, ГПДА), *H. abietis* (СА+Х, МРА, МЕА, ОА).

Штаммы *H. coralloides* росли со скоростью от 1 до 5 мм/сутки. Лучшими средами для них оказались ГПДА для штамма 1876, СА с добавками, а также КГА и РДА для штаммов 2232 и 2233. Следует отметить, что именно на КГА скорость роста была максимальной (до $4,8\pm 0,2$ мм/сутки), колонии образовывались белые, шелковистые с тяжами.

Максимальный рост на КГА наблюдали также у штамма *H. clathroides* 2559 ($4,6\pm 0,2$ мм/сутки), однако, несмотря на то, что образовывались плотные войлочные колонии, плодоношения на данной среде зафиксировано не было.

Среди исследованных культур наивысшая скорость роста зафиксирована нами у штамма *H. erinaceus* 339 на овсяном агаре ($6,9\pm 0,5$ мм/сутки). Эта же среда оказалась селективной и для других штаммов этого вида, но образующиеся белые шелковистые мицелиальные колонии с тяжами были не плотные. Максимально плотные войлочные колонии образовывались на СА, СА+Д, СА+Х, СА+К, МРА, МУРА, скорость роста большинства штаммов также была максимальной. Первые плодовые тела появлялись именно на этих средах, начиная уже с 20-го дня культивирования. На средах МЕА и ПА скорость роста культур была значительно ниже, колонии были тонкие и шелковистые, примордии и плодовые тела образовывались очень медленно или вообще отсутствовали. В целом штаммы *H. erinaceus* росли со средней скоростью роста от 2 до 6 мм/сутки в зависимости от штамма и питательной среды. Таким образом, в ходе исследований показано, что наиболее селективными средами для культивирования мицелия *H. erinaceus* являются среды на основе солода с различными растительными добавками, такими как дубовая кора, хвоя и отвар кориандра. Также хорошо зарекомендовали себя такие комплексные среды как МРА, МУРА и КГА. К быстрорастущим штаммам, перспективным для дальнейших исследований можно отнести штаммы *H. erinaceus* 965, 991, 2016, тогда как для разработки технологии культивирования стоит обратить внимание на штамм 992, легко плодоносящий на самых разнообразных питательных средах. Поэтому данные культуры являются перспективными для дальнейших исследований и разработки их промышленного внедрения.

Наименьшая скорость роста отмечена нами у штаммов видов *H. abietis* и *H. flagellum*, для которых была характерна длительная лаг-фаза, минимальная — семь дней. Лучше рос штамм *H. abietis* 2376: на подобранной селективной среде (ПА) скорость роста достигала $3,7\pm 1,0$ мм/сутки, но колонии были неплотные и плодовые тела на этой среде не образовывались. Лучшими средами для культивирования *H. flagellum* 2407 оказались СА, МЕА и РДА с максимальной скоростью $2,3\pm 0,3$ мм/сутки.

Следует отметить, что исследованные культуры по скорости роста можно разделить на две группы [7]: медленнорастущие и растущие со средней скоростью роста. Наиболее многочисленной была группа медленнорастущих культур, к ней можно отнести большинство исследованных культур рода *Hericium*. К штаммам, растущим со средней скоростью роста (от 4 до 8 мм/сутки) нами были

отнесены отдельные штаммы *H. erinaceus*, *H. cirrhatum*, *H. clatroides*, *H. coralloides* на подобранных оптимальных для их роста питательных средах.

Таким образом, для каждого вида *Hericium* s.l. нами отмечены селективные среды для культивирования вегетативного мицелия (среды натурального состава, содержащие солодовый экстракт, растительные добавки: СА, СА+К, КГА и ОА), подобраны штаммы, растущие с максимальной скоростью роста на большинстве питательных сред и легко переходящие к генеративной стадии. Предложенные штаммы являются перспективными для дальнейших исследований и разработки технологий их культивирования. Полученная в ходе исследования информация важна для возможного практического использования тех или иных культур ИВК коллекции, поскольку может служить критерием для отбора отдельных наиболее перспективных штаммов — объектов современного грибоводства и биотехнологии получения лекарственных препаратов.

Список литературы

1. Зерова М.Я. Визначник грибів України // М.Я. Зерова, Г.Г. Радзівський, С.В. Шевченко / Базидіоміцети. — Т. 5, кн. 1. — К.: Наук. думка, 1972. — 240 с.
2. Вассер С.П. Наука о лекарственных грибах: современные перспективы, достижения и проблемы // Макромицеты: лекарственные свойства и биологические особенности / Под ред. проф. С.П. Вассера. — К., 2012. — С. 5–45.
3. Wong K-H., Gryganski A.P., Cheng P-G. et al. Lion's mane mushroom — the natural healer for nerve damage // *Macromycetes: medicinal properties and biological peculiarities* / Ed. by Prof. J. Gabriel. — K.: Nash format, 2016. — 2. — P. 69–105.
4. Bisko N.A., Lomberg M.L., Mytropolska N.Yu., Mykchaylova O.B. The IBK mushroom culture collection. Kyiv: M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of the Ukraine, Alterpres, 2016, 120 p.
5. Lomberg M.L., Mikhailova O.B., Bisko N.A. Mushroom culture collection (IBK) as a subject of national heritage of Ukraine. *Ukr. Bot. J.* 2015. — 72(1): 22–28. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj72.01.022>
6. Bisko N.A., Sukhomlyn M.M., Mykchaylova O.B. et al. *Ex situ* conservation of rare and endangered species in mushroom culture collections of Ukraine. *Ukr. Bot. J.* 2018. — 75(4): 338–347. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj75.04.338>
7. Ломберг М.Л., Соломко Э.Ф. Рост культур макромицетов на агаризованных питательных средах и плотных субстратах // Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре / Под ред. проф. С.П. Вассера. — К. — 2012. — 2. — С. 345–371.
8. Bisko N.A., Lomberg M.L., Mykchaylova O.B., Mytropolska N.Yu. Conservation of biotechnological important species diversity and genetic resource of rare and endangered fungi of Ukraine. *Plant & Fungal Research.* 2018. — 1(1): 18–27.

МИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОСНОВНЫХ ВИДОВ СУХОФРУКТОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ НА РЫНКЕ РФ

Минаева Л.П., Полянина А.С., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А.
ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва

Контаминация продовольственного растительного сырья плесневыми грибами — продуцентами микотоксинов (МТ) является одной из актуальных проблем безопасности пищи как в Российской Федерации, так и в большинстве стран мира. Распространенность и видовое разнообразие плесневых грибов, возможность контаминации ими на любом этапе производства, транспортировки и хранения, а также то, что зараженная продукция может содержать одновременно несколько различных микотоксинов, делает эту проблему чрезвычайно актуальной. Наличие легкоусвояемых углеводов делает свежие и высушенные фрукты наиболее уязвимыми для поражения плесенью.

Проведено изучение загрязненности плесневыми грибами 7 видов сухофруктов (финики, курага, изюм, компотная смесь, инжир, чернослив, яблоки сушеные, всего 58 образцов) различного географического происхождения, реализуемых в РФ в сети розничной торговли. Исследуемые образцы также были охарактеризованы по микробиологическим показателям, регламентируемым для данной группы пищевой продукции в РФ. Согласно технического регламента «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011) в РФ и

ЕАЭС установлены следующие требования к микробиологической безопасности сухофруктов: количество плесневых грибов и дрожжей — 500 КОЕ/г, не более; КМАФАнМ — 5×10^4 КОЕ/г, не более; БГКП — в 0,1 г не допускается; патогенные, в том числе сальмонеллы, в 25 г не допускаются.

По данным микологических посевов высокое содержание плесневых грибов с превышением норматива было выявлено в 6 из 58 (10%) исследованных образцов: в финиках — в 4 из 11 образцов (36%), в компотной смеси — в 1 из 9 (11%), в изюме — в 1 из 11 (9%). В образцах кураги, чернослива, яблок сушеных плесневые грибы в посевах не были обнаружены (менее 5 КОЕ/г), в инжире только в 1 образце из 7 (14%) плесней было 40 КОЕ/г. По частоте обнаружения плесеней сухофрукты распределились следующим образом: финики — 9 из 11 образцов содержали $45 - 4 \times 10^3$ КОЕ/г, среди которых 5 образцов из Ирана; изюм — 5 из 11 образцов содержали $20 - 1,4 \times 10^5$ КОЕ/г, где максимальный уровень был обнаружен в одном образце из Узбекистана; компотная смесь — 4 из 9 образцов содержали 15–540 КОЕ/г. Дрожжи были обнаружены только в одном образце фиников из Алжира с превышением

норматива — $1,7 \times 10^3$ КОЕ/г. Жизнеспособные плесневые грибы не обнаруживались в сухих косточковых плодах (курага, чернослив, яблоки). Распределение образцов сухофруктов по уровням загрязненности плесенью (средние значения по группам) представлено в таблице 1.

Изучение видового состава плесеней показало, что доминирующими во всех загрязненных образцах были грибы *Aspergillus* секции *Nigri*, которые везде определяли максимальные уровни контаминации. Кроме того, обнаружены представители нескольких родов микромицетов, в том числе *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, отдельные виды которых являются продуцентами опасных МТ, а также эмерджентных МТ. Для дальнейших микологических исследований из посевов различных видов сухофруктов были выделены 42 моноспоровых изолятов микромицетов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* и *Alternaria*, среди которых были отнесены к *Aspergillus* секции *Nigri* — 21 штамм (48%), *A. ochraceoroseus* — 2, *A. clavatus* — 1, *Aspergillus sp.* — 8, *Penicillium sp.* — 8, *Fusarium sp.* — 1, *Alternaria sp.* — 1. Выделенные штаммы в дальнейшем будут исследованы методами ПЦР анализа для уточнения видовой принадлежности и в условиях *in vitro* для определения спектра токсинообразования.

Бактериальная загрязненность продукции характеризует условия сбора и транспортировки сырья, общее гигиеническое состояние производства. По полученным результатам 57 из 58 исследованных образцов соответствовали нормативу по КМАФАнМ, причем в большинстве образцов в каждой группе сухофруктов

количество бактерий укладывалось в диапазон 10 – 500 КОЕ/г. В 1 образце фиников из Алжира количество бактерий составило $1,2 \times 10^5$ КОЕ/г. Бактериальная контаминация была обусловлена преимущественно спорообразующими бациллами *Bacillus sp.* Ни в одном образце не были выявлены на нормируемом уровне БГКП и патогены рода *Salmonella*. Наиболее загрязненным видом сухофруктов оказались финики — количество плесеней и бактерий превышало установленные нормативы.

Как известно промышленная технология производства сухофруктов допускает использование консервантов, информацию о содержании которых в готовом продукте изготовитель должен выносить на этикетку. В 43% исследованных образцов (25 из 58) было указано на наличие консервантов. В таблице 2 приведены сравнительные результаты по содержанию плесеней и бактерий в сухофруктах с консервантами и без консервантов.

По уровням загрязнения сухофрукты, изготовленные без консервантов (57% образцов) содержали более высокие количества плесневых грибов, более высокие уровни бактерий определяли в кураге, инжире, изюме и финиках; в компотных смесях независимо от наличия консервантов среднее количество бактерий было в пределах одного порядка. Действие применяемых консервантов на основе сорбиновой кислоты и ее солей направлено на подавление роста дрожжей и микроскопических грибов, и, как было показано, снижает численность плесеней в готовой продукции до безопасного уровня, однако это не всегда означает отсутствие в такой продукции микотоксинов (МТ). По результатам

Таблица 1. Распределение образцов сухофруктов по уровням загрязненности плесневыми грибами, полученные при микологическом анализе (среднее в группе)

Сухофрукт	Число образцов	Содержание плесеней, КОЕ/г					Среднее	Пределы колебаний
		< 5	5–100	100–500	> 500	Число образцов в диапазоне		
Чернослив	7	7	0	0	0	0	<5	
Яблоки суш.	3	3	0	0	0	0	<5	
Абрикосы	9	9	0	0	0	0	<5	
Инжир	7	6	1	0	0	6	<5 – 40	
Компотная смесь	9	5	3	0	1	73	<5 – 540	
Изюм	11	6	1	3	1	12785	<5 – 140000	
Финики	11	2	2	3	4	575	<5 – 4000	

Таблица 2. Сравнение образцов сухофруктов с консервантами и без консервантов по установленным микробиологическим нормативам

Сухофрукт	Число образцов		Содержание микроорганизмов (среднее), КОЕ/г			
			Плесневых грибов		КМАФАнМ	
	С консервантами	Без консервантов	С консервантами	Без консервантов	С консервантами	Без консервантов
Чернослив	5	2	<5	<5	<10	<10
Яблоки суш.	0	3	-	<5	-	<10
Абрикосы	6	3	<5	<5	$3,7 \times 10^2$	$2,7 \times 10^3$
Инжир	4	3	10	<5	<10	173
Компотная смесь	1	8	<5	$8,3 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
Изюм	4	7	$3,5 \times 10^2$	2×10^4	<10	$1,3 \times 10^1$
Финики	5	6	$2,6 \times 10^2$	$8,4 \times 10^2$	$5,3 \times 10^2$ *	10^3

* — без учета загрязненности одного образца $1,2 \times 10^5$ КОЕ/г

исследований содержания МТ в этих же сухофруктах (результаты представлены отдельно) выявлено, что в микробиологически чистых образцах инжира обнаруживалось до 6 видов МТ, среди которых токсические метаболиты грибов рода *Fusarium*, *Penicillium* и *Alternaria*. Это свидетельствует о контаминации фруктов продуцентами МТ на этапах, предшествующих обработке консервантами, и что отсутствие выявления плесневой контаминации при микологическом анализе не означает отсутствие МТ в продукции, поэтому для обеспечения безопасности данного вида продукции необходим комплексный контроль.

В целом изучение характера и уровней микробной контаминации сухофруктов, реализуемых на потребительском рынке в РФ, показало, что по количеству плесеней и общей бактериальной обсемененности не

соответствуют установленным нормативам 10,4% и 2% образцов, соответственно. То есть плесневые грибы являются основным видом микрофлоры данной группы продукции, отвечающей за несоответствие гигиеническим нормативам. Частота обнаружения и уровни загрязнения плесенью сухофруктов с высоким природным содержанием сахаров (финики, изюм) достоверно выше, чем в других сухофруктах.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-16-00077) «Эмерджентные микотоксины в пищевых продуктах растительного происхождения: разработка методов анализа, изучение контаминации, видовая характеристика микромикотоксигенов-продуцентов, разработка гигиенических нормативов».

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ *HELIANTHUS TUBEROSUS* И *CELOSIA CRISTATA* НА ИНГИБИТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ *A. EGYPTICUS-HT166S* И *P. BREVICAULE ALBA-CC200*

Мухаммедов И.И., Абдульмянова Л.И., Каримова Ф.А., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г.
Институт Микробиологии АН РУз, Ташкент

Эндофитные грибы, бессимптомно обитающие в тканях здоровых растений, признаны неисчерпаемым источником различных биологически активных веществ, в том числе, ингибиторов панкреатической α -амилазы и α -глюкозидазы, применяющихся при лечении постпрандиальной гипергликемии и сахарного диабета [1–3].

В связи с этим, чрезвычайно интересным и востребованным аспектом изучения взаимоотношений растения-хозяина и эндофита является биосинтез растительных веществ эндофитом. Таким, наиболее известным на данный момент, примером биосинтеза растительного соединения эндофитом, является продукция паклитаксела (таксол) эндофитами *Taxus brevifolia* [4].

Однако, культивирование эндофита без его хозяина может привести к потере синтеза желаемого продукта, в связи с чем, проблема сохранения и повышения продуктивности эндофитов, при культивировании в аксенических условиях, является весьма актуальной. Одним из решений данной проблемы является применение эпигенетических модификаторов, индукторных и сигнальных растительных соединений [5,6].

В этой связи, нами изучено влияние чистого этанола (в объеме 2% и 5%), а также взаимное и перекрестное влияние этанольных экстрактов (в объеме 2%) растений — хозяев *Helianthus tuberosus* и *Celosia cristata* на рост, развитие и биоактивность выделенных из них эндофитных грибов — продуцентов ингибиторов панкреатической α -амилазы *A. egypticus* — HT166S и *P. brevicaulis* — CC200 соответственно.

В результате исследований влияния этанола установлено, что внесение в среду культивирования 5% объема чистого этанола приводит к полному отсутствию роста биомассы у обоих штаммов. Внесение 2% этанола вызывает морфологические изменения в мицелии культур, выражающиеся в уменьшении толщины гифов и, как следствие, снижении выхода грибной биомассы. Изменение степени ингибирования панкреатической амилазы экстрактами вторичных метаболитов *A. egypticus* — HT166S и *P. brevicaulis* — CC200 не наблюдалось.

В результате исследований взаимного и перекрестного влияния этанольных растительных экстрактов (в объеме 2%) установлено, что метаболиты растений-хозяев оказывают специфическое влияние на морфо-культуральные параметры роста своих эндофитов в условиях искусственного культивирования, выражающиеся в утолщении и разветвлении гиф, скорости накопления биомассы (на 3-и сутки роста) и вторичных метаболитов. Экстракт *Helianthus tuberosus* не влияет на накопление биомассы и выход экстрагируемых веществ у *P. brevicaulis* — CC200, выделенного из *Celosia cristata*. В то время как у эндофита *Helianthus tuberosus* — *A. egypticus* — HT166S, наблюдается увеличение выхода, как биомассы, так и вторичных метаболитов в 1,4 раза. Экстракт *Celosia cristata* также проявляет аналогичное влияние, увеличивая выход метаболитов своего эндофита *P. brevicaulis* — CC200 почти в 2,5 раза. Однако, на ингибиторную активность обоих культур заметного влияния этанольных экстрактов как *Helianthus tuberosus*, так и *Celosia cristata* не выявлено.

Таким образом, ожидаемое влияние чистого этанола на биоактивные параметры культур не установлено. Значительное влияние этанольных экстрактов растений *Helianthus tuberosus* и *Celosia cristata* выявлено именно на выход экстрагируемых веществ своих собственных эндофитных грибов. Вероятно, внесение растительных экстрактов в среду культивирования индуцирует синтез разнообразных новых соединений, различной природы и свойств.

Список литературы

1. Akshatha V.J., Nalini M.S., D'Souza C., Prakash H.S. Streptomycete endophytes from anti-diabetic medicinal plants of the Western Ghats inhibit α -amylase and promote glucose uptake. *Lett. Appl. Microbiol.* 2014 May; 58(5):433–9.
2. Funke I., Melzing M.F. Traditionally used plants in diabetes therapy — phytotherapeutics as inhibitors of α -amylase activity. *Rev Bras Farmacogn.* 2006; 16: 1–5.
3. Dhankhar S.1., Dhankhar S., Yadav J.P. Investigations towards new antidiabetic drugs from fungal endophytes associated with *Salvadora oleoides* Decne. *Med. Chem.* 2013 Jun. 1;9(4):624–629.
4. Artanti N., Tachibana S., Kardono L.B., Sukiman H. Isolation of alpha-glucosidase inhibitors produced by an endophytic fungus, *Colletotrichum* sp. TSC13 from *Taxus sumatrana*. *Pak J Biol Sci.* 2012 Jul 15;15(14):673–9.
5. Kumar S., Kumar V., Rana M., Kumar D. Enzyme inhibitors from plants: An alternate approach to treat diabetes. *Pharmacog. Communi.* 2012; 2: 18–33.
6. Picot C.M.N., Subratty H., Mahomoodally F. Inhibitory potential of five native antidiabetic medicinal plants on α -amylase, α -glucosidase, glucose entrapment, and amylosis kinetics in vitro. *Adv. Pharm. Sci.* 2014(2014), pp. 1–7.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РАЗВИТИЕ ГРИБА *CLADOSPORIUM CUCUMERINUM*, ВОЗБУДИТЕЛЯ ОЛИВКОВОЙ ПЯТНИСТОСТИ *IN VITRO* И НА РАСТЕНИЯХ ОГУРЦА

Пасечник Т.Д.

Всероссийский институт фитопатологии, Б. Вяземы

На развитие болезней растений влияют различные факторы — свет, влажность, засоленность, температура [1]. Так, было обнаружено, что устойчивость риса к пирикулярриозу может быть индуцирована высокой температурой [2]. Данный фактор может влиять как на развитие самого патогена, так и на защитные реакции растений.

Цель данной работы — исследовать влияние температуры на рост гриба *Cladosporium cucumerinum* (возбудителя оливковой пятнистости) *in vitro*, а так же ее действие на развитие болезни и защитные реакции растений.

Споры *C. cucumerinum* проращивали при различных температурах в термостате. Смотрели также действие диффузатов спор, полученных при температурах от +4 до 28 °C на прорастание новой порции спор. Тест-объект проращивали при 25 °C. Диффузаты и их споры получали как описано ранее [3],

Так же выращивали гриб на картофельно-глюкозном агаре. Посадку мицелия проводили точечным уколом в центр чашки, через неделю смотрели размер колоний. Для изучения влияния температуры на развитие болезни 2-й лист 2-недельных растений огурца сорта Феникс заражали каплями суспензии спор, с тем отличием,

что растения выдерживали при разных температурах. Через неделю проводили учет симптомов. Признаком совместимости были серо-коричневые некротические пятна. Устойчивости — отсутствие симптомов или желто-зеленые хлорозы [4]. Определяли долю пятен каждого типа от общего числа.

Обнаружено, что оптимальной для прорастания спор является температура 25 °C.

Рисунок 2 — Зависимость прорастания спор в диффузатах спор, полученных при разных температурах. Средние \pm стандартное отклонение из 4 повторностей

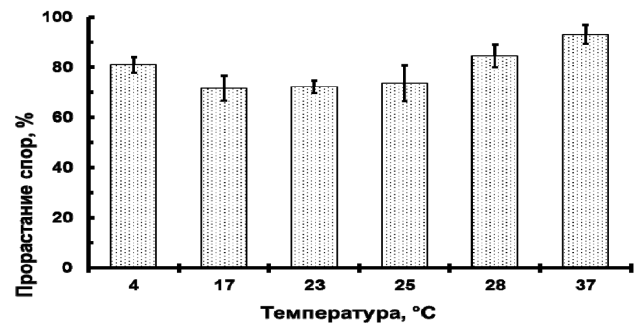


Рисунок 1 — Зависимость прорастания спор в воде от температуры. Средние \pm стандартное отклонение из 4 повторностей

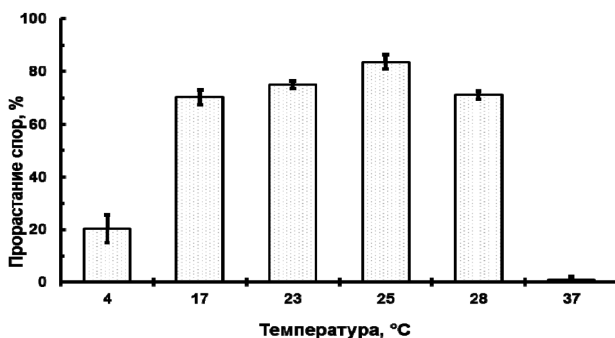


Рисунок 3 — Зависимость роста мицелия при разных температурах. Средние \pm стандартное отклонение из 3 повторностей

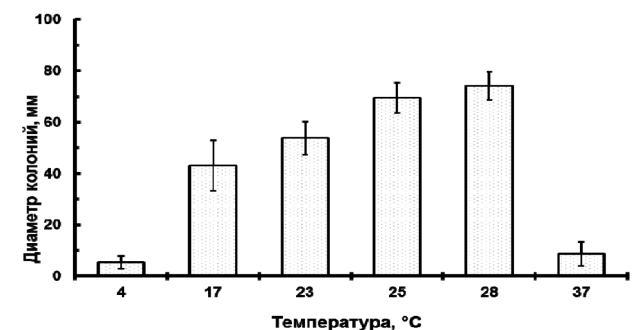


Таблица 1 — Влияние температуры при инокуляции на симптомы оливковой пятнистости на 2-м листе.

Температура инокуляции, °С	Частота указанных симптомов на лист (%)		
	без симптомов (R)	хлороз (MS)	некроз (S)
17	3±1	17±4	80±6
23	42±4	35±6	23±7
28	76±7	18±6	6±4

Средние ± стандартное отклонение из 6 повторностей.

При этом прорастание не связано с самоингибированием гриба, даже напротив, при 37 °С споры выделяют вещества. Они стимулируют рост новой порции гриба, возможно обладают антистрессовой активностью.

Лучше всего болезнь развивалась при ночной температуре 17 °С (таблица 1), хотя гриб при этом развивался хуже. Возможно, подавление развития болезни происходит в тканях растения. Кратковременное охлаждение растений приводит к снижению активности антиокислительных ферментов [4]. Возможно, в тканях при этом увеличивается количество активных форм кислорода.

Возможно, растения при повышенной температуре образуют токсические вещества. Известно, что кратковременное охлаждение растений приводит к снижению активности антиокислительных ферментов [4]. Изменение активности в принципе может менять про/анти окислительный баланс в растениях, поэтому важно исследовать, как обработки индукторами или абиотическими стрессовыми факторами влияют на него.

Таким образом, температура влияет на развитие возбудителя оливковой пятнистости. Подавление развития болезни в растениях при повышенной температуре, видимо, происходит в тканях. Возможно, оно связано с активными формами кислорода. Исследование влияния абиотических факторов на патогены и расте-

ния может быть полезным для уточнения оптимальных условий культивирования растений.

Список литературы

1. Тютюрев С.Л. // Вестник защиты растений 1(83) — 2015, с. 3–13.
2. Лапикова В.П., Аверьянов А.А. Участие активных форм кислорода в механизме устойчивости риса к пирикулярриозу, индуцированной высокой температурой // Докл. АН СССР. 1993. Т. 329. С. 253–255.
3. А.А. Aver'yanov, V. P. Lapikova, T. D. Pasechnik, T. S. Zakharenkova, C. J. Baker. Self-inhibition of spore germination via reactive oxygen in the fungus *Cladosporium cucumerinum*, causal agent of cucurbit scab // European Journal of Plant Pathology. 2011. V. 130. P. 541–550
4. A. A. Aver'yanov, T. D. Pasechnik, V. P. Lapikova, T. S. Romanova, A. V. Babosha, and C. J. Baker // Inhibitors of Antioxidant Enzymes Systemically Protect Cucumber Plants from Scab.
5. Т. Г. Шибаева, Е. Г. Шерудило, Е. Н. Икконен, А. Ф. Титов. Влияние кратковременных ежесуточных понижений температуры на активность антиоксидантных ферментов в листьях огурца разного возраста // Труды Карельского научного центра РАН — 2015. — № 12. — С. 107–115. doi: 10.17076/eb241

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ МИЦЕЛИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ *FUSARIUM* И *PYRENOPHORA* ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С БИОКОНТРОЛЬНЫМИ ШТАММАМИ *BACILLUS SUBTILIS*

Павлова М.Д., Асатурова А.М.

Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар

Подсчитано, что прямые потери урожая от грибов рода *Fusarium* Lk: Fr- возбудителей корневых гнилей пшеницы, трахеомикозного увядания, фузариоза колоса составляют до 30–40%, потери качества зерна — до 100% (Выприцкий, Плахотник, Выприцкая, 2006). Фитопатогенные грибы р. *Pyrenophora* Fr. — возбудители желтой пятнистости листьев пшеницы, сетчатой и полосатой пятнистой ячменя и др. заболеваний также обладают высокой вредоносностью. Потери зерна от этих заболеваний могут составлять от 23 до 65% (Волкова, 2012).

Разработка и внедрение эффективных биопрепаратов против данных патогенов, как альтернатива применению химических пестицидов, может стать важным

звеном в системах интегрированной защиты зерновых культур. В лаборатории создания микробиологических средств защиты растений и коллекции микроорганизмов ВНИИБЗР собрана обширная коллекция штаммов бактерий, обладающих антагонистическими свойствами в отношении фитопатогенных грибов. Среди наиболее перспективных — штаммы *Bacillus subtilis* BZR 336g и *Bacillus subtilis* BZR 517, ставшие основой экспериментальных образцов биопрепаратов для защиты зерновых культур от экологически значимых болезней.

В ходе многолетних лабораторных и полевых исследований экспериментальные образцы биопрепаратов показывали сравнительно высокую биологическую эффективность против фузариозной корневой гнили и

фузариоза колоса: 23–71 % и 16–73 %, желтой пятнистости листьев –38–94 %.

Для успешной разработки и применения разрабатываемых биопрепаратов необходимо раскрыть механизмы взаимодействия биоконтрольных агентов с целевыми патогенами. Это позволит, в случае необходимости, скорректировать технологии производства и применения биопрепаратов для их максимальной эффективности. Именно поэтому целью нашего исследования стало изучение морфологических и физиологических реакций фитопатогенных грибов с различной биологией на воздействие перспективных штаммов *B. subtilis* их метаболитов.

Микроскопические наблюдения совместно культивируемых штаммов-антагонистов и патогенов показали следующие негативные изменения строения мицелия обоих видов грибов: укорочение, утолщение, искривление сегментов мицелия, разрушение клеточной стенки и выход клеточного содержимого, а также хемотаксис бактериальных клеток по направлению к гифам и лизис гиф. При этом мицелий *Pyrenopeziza repens* оказался наиболее уязвимым к действию биоконтрольных штаммов — степень ингибирования его роста составляла 78,5–93,9%, тогда как *Fusarium graminearum* — 20,7–49,2%. У изолятов *Pyrenopeziza repens* при совместном культивировании со штаммами *B. subtilis* наблюдалась необычная розовато-оранжевая пигментация мицелия, при микроскопировании были обнаружены оранжевые игловидные кристаллы на поверхности гиф патогена. Предположительно, наблюдаемая пигментация может быть обусловлена выделением цинодонтина (1,4,5,8-тетрагидрокси-2-метилантрахинон), обнаруживаемого у *Drechslera avenae* при воздействии биотического и абиотического стресса (Гесслер, 2013).

Исследование комплекса метаболитов культуральной жидкости штаммов *B. subtilis* BZR 336 и *B. subtilis* BZR 517 проводили методами биоавтографии и хроматографических методов, что позволило выделить из всего комплекса метаболитов именно те группы соединений, которые подавляют рост тест-культуры *F. oxysporum* var. *orthoceras* на силикагелевых пластинах с питательной средой. По характеру свечения в УФ-свете и реакциям с детектирующими агентами можно предположить, что выявленные метаболиты, являются, преимущественно циклическими липопептидами.

Таким образом, за счет синтеза антифунгальных метаболитов штаммы-антагонисты *B. subtilis* подавляют рост и вызывают структурно-функциональные нарушения мицелия фитопатогенных грибов, а при непосредственном контакте, особенно, в условиях дефицита питательных веществ, бактерии могут использовать гифы микромицетов в качестве источника питания.

Список литературы

1. Волкова Г. В. Желтая пятнистость листьев пшеницы / Г. В. Волкова, О. Ю. Кремнева, А. Е. Андропова [и др.]. — М.: «АЛМА-ПРЕСС». — 2012. — 107 с.
2. Выприцкий А. С. Возбудители особо опасных болезней подсолнечника в ЦЧЗ / А. С. Выприцкий, В. В. Плахотник, А. А. Выприцкая // Биологическая защита растений — основа стабилизации агроэкосистем: материалы междунауч.-практ. конф., (20–22 сентября, 2006 г.). — Краснодар, 2006. — Вып. 4. — С. 134–136.
3. Гесслер Н. Н. Антрахиноны грибов / Н. Н. Гесслер, Т. А. Белозерская, А. С. Егорова // Прикладная биохимия и микробиология. — 2013. — Т. 49, № 2. — С. 109–123.

РОСТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МИКОПЕСТИЦИДОВ

Павлова Н. А.¹, Чернакова Д. А.², Фролова Г. М.¹, Сокорнова С. В.¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный технологический институт

Современные методы защиты растений сфокусированы на разработке препаратов комплексного действия. Зачастую, наряду с профилирующей активностью, оценивают антимикробное, ростостимулирующее, иммуномодулирующее и др. действия биопрепаратов [1]. В качестве активного начала микопестицидов рассматривают как живые культуры грибов, так и микробные экстракты, очищенные соединения и их синтетические аналоги. Цель данного исследования: оценка ростостимулирующей активности продуцентов потенциальных микопестицидов и микробных экстрактов, полученных на их основе. В работе использовали штаммы фитопатогенов *Calophoma complanata* 32.121, *Alternaria sonchi* S-102, *Stagonospora cirsii* C-163 и энтомопатогенов *Beauveria bassiana* BB16, *B. bassiana* T7, *B. caledonica* BSc25Vg18, *B. caledonica* BSc13Vg18 из рабочей коллекции лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии ФГБНУ ВИЗР. Глубинный мицелий получали на саха-

розо-соевой питательной среде, в результате культивирования в течение 7 суток (180 об/мин, температура 24°C). Мицелий отделяли от культуральной жидкости центрифугированием в течение 10 мин при 10000 об/мин. Спиртовую экстракцию проводили из 200 мг сырого мицелия 10-ю мл 80% этанола при 80°C в течение 1 ч. Ростостимулирующую активность оценивали для следующих композиций: 1 — спиртовой экстракт мицелия (100-кратное разведение); 2 — культуральная жидкость (100-кратное разведение); 3 — суспензия на основе сырого мицелия (25 мг/мл); 4 — проавтоклавированная суспензия мицелия (25 мг/мл). Выбранный способ получения мицелия, концентрации мицелия и действующих веществ в композициях соответствуют тем, при которых достигается высокая целевая активность препаратов [2]. Оценку проводили методом двухслойных рулонов по длине корневых проростков пшеницы Саратовская 73, образующихся на 4 сутки

при проращивании семян в растворах композиций по отношению к контролю (%) [3].

В некоторых случаях суспензии на основе мицелия и спиртовые экстракты из мицелия одного и того же вида проявляли разноплановую активность. Так суспензии на основе сырого мицелия *S. complanata* 32.121 и *S. cirsi* С-163 стимулировали рост корней на $58 \pm 2.8\%$ и $45 \pm 2.1\%$, соответственно. В то время как спиртовые экстракты на основе мицелия этих грибов ингибировали рост корней в среднем на $40 \pm 3.2\%$. Все композиции на основе мицелия *A. sonchi* S-102 существенно ингибировали рост корней (от 20 до 50%). Ингибирование роста корней ($20 \pm 1.8\%$) также было отмечено в случае экстракта на основе мицелия энтомопатогена *B. bassiana* ВВ16. Другие композиции на основе мицелия штаммов рода *Beauveria* в исследуемых концентрациях не оказывали достоверного влияния на скорость развития корней пшеницы. Хотя известно, что при эндофитном существовании энтомопатогенные виды могут оказывать ростостимулирующее воздействие на растения [4]. Возможно, данная активность проявляется преимущественно при эндофитном образе жизни, что обусловлено высокой экологической пластичностью грибов рода *Beauveria*. Механизмы этого явления пока изучены недостаточно хорошо. Таким образом, при создании эффективных микопестицидов и оценки потенциальных экологи-

ческих рисков при их применении важно учитывать весь спектр биологической активности действующего начала препарата.

Работа частично выполнена при поддержке гранта РНФ №16-16-00085 «Разработка технологий получения и применения микогербицидов для борьбы с трудноискоренимыми сорными растениями».

Список литературы

1. Bailey K, Boyetchko S, Langle T. Biological control: theory and application in pest management. 2010; 52 (3):221–9. ISSN 1049–9644.
2. Сокоурнова СВ, Берестецкий АО Подходы к получению высоковирулентного глубинного мицелия *Stagonospora cirsi*, потенциального микогербицида для борьбы с бодяком полевым // Сельскохозяйственная биология 2018; 53(5): 1054–61. DOI: 10.15389/agrobiology. 2018.5.1054rus
3. Лихачев БС Определение силы роста семян зерновых культур по морфо-физиологической оценке проростков: методическое указание. Л.: ВАСХ-НИЛ, 1975. 15 с.
4. Hu S, Bidochka MJ. Root colonization by endophytic insect-pathogenic fungi. J. Appl. Microbiol. 2019; 1–12. DOI: 10.1111/jam. 14503.

ФИТОПАТОГЕННЫЙ КОМПЛЕКС ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Петрова Н.Г., Долженко В.И.

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

Северо-Западный регион (и, в частности, Ленинградская область) характеризуется своими уникальными климатическими особенностями. Находящаяся в ландшафтной зоне тайги, в двух ландшафтных провинциях (Карельской и Двинско-Мезенской), она обладает переходным климатом от морского к континентальному. Одной из характерных особенностей климата является количество осадков в регионе от 550–850 мм в год, которая превышает величину испаряемости. Таким образом, Ленинградская область находится в зоне избыточного увлажнения. По почвенным условиям отмечается преобладание почв подзолистого и болотного типа, при этом основным типом почв в области являются подзолистые, бедные перегноем и отличающиеся значительной кислотностью (Мильков, Гвоздецкий, 1986; Большая Советская Энциклопедия, 1973; Советский Энциклопедический Словарь, 1984).

Патогенный комплекс Северо-Западного региона в связи с наличием благоприятных для его развития почвенно-климатических условий на посевах пшеницы яровой в период вегетации этой территориальной единицы представлен двумя видами возбудителей септориоза (*Septoria tritici* и *Stagonospora nodorum*), бурой ржавчиной (*Puccinia triticina*) стеблевой ржавчиной (*Puccinia graminis*), мучнистой росой (*Blumeria graminis*), а также недавно появившейся в этом регионе (впервые

была отмечена в 2005 году) желтой пятнистостью или пиренфорозом (*Pyrenophora tritici-repentis*) (Гультяева, Левитин, Семенякина, Никифорова, Савельева, 2007; Гультяева, Левитин, Семенякина, Никифорова, Казакевич, 2008; Гультяева, Гасич, Левитин, Маслова, Колесникова, Вусатюк и соавт., 2016; Гультяева, Шайдаук, Шпилова, Левитин, Маслова, Вусатюк и соавт., 2017).

При поражении бурой ржавчиной урожай зерна в обычные годы снижается на 3–5%, а при сильном развитии в годы эпифитотий 25–30%. Раннее поражение листьев мучнистой росой приводит к потерям урожая на уровне 8–25%, а при сильном поражении во время вегетации — до 20–30%. При поражении листьев яровой пшеницы пиренфорозом потери урожая могут достигать 40%. Последствия поражения септориозом проявляются в снижении урожайности на 10–15%, а в эпифитотийные годы — до 40% (Левитин, Тютюрев, 2003).

Наши исследования были проведены в 2012–2017 годах в климатических условиях Ленинградской области на посевах 3 восприимчивых к выше обозначенным болезням сортов яровой пшеницы: Ленинградская 6, Ленинградская 97 и Дарья.

В 2012 году было отмечено проявление полного комплекса листовых патогенов на посевах яровой пшеницы, характерных для данного региона. Развитие

бурой ржавчины на сорте Ленинградская 6 составило 30,7%; мучнистой росы — 7,7% и септориоза листьев — 12,2%. На сорте Ленинградская 97 развитие септориозно-пиренофорозной пятнистости было на уровне 3% и бурой ржавчины — 18,2%. Сорт Дарья в этот вегетационный сезон был поражен бурой ржавчиной на 15,5–21,5%; мучнистой росой — 1,8–6,8% и септориозом — 2,6–3,6%. Проявление этих заболеваний было отмечено в 20-х числах июля. В первых двух декадах этого месяца складывались благоприятные условия для проявления этих заболеваний, однако, наиболее благоприятными они были для умеренного развития бурой ржавчины (среднедекадная температура 17,5–20,4 °С, влажность воздуха — 65–76%, 6–34,9 мм осадков). Превалирование этого возбудителя в фитопатогенном комплексе пшеницы яровой в этом году определила 1-я декада июля, в течение которой выпало только 6 мм осадков. Мучнистая роса, пиренофороз и септориоз имели развитие в слабой степени.

В 2013 году на посевах яровой пшеницы развития мучнистой росы отмечено не было. Бурая ржавчина получила свое развитие только в слабой степени. На сорте Ленинградская 6 ее развитие составило 3,5–13,1%, на сорте Дарья — 5,5–9,0%. Септориозно-пиренофорозная пятнистость на сорте Ленинградская 97 достигала развития порядка 3,5%, а на сортах Ленинградская 6 и Дарья была соответственно — 30,1–32,7% и 24,9–32,7%. Срок появления болезней в этот год был аналогичен предыдущем году, однако, среднедекадные показатели температуры, влажности и осадков составляли соответственно: 17,7–19,7 °С, 65–68%, 29,2–32,3 мм. Выпадение осадков на уровне 29,2–32,3 мм в 1-ю и 2-ю декаду июля определило превалирование пятнистостей над бурой ржавчиной. Развития мучнистой росы не происходило по причине низкой влажности воздуха, которая отмечалась в этот период.

На посевах яровой пшеницы сорта Ленинградская 6 и Дарья климатические условия вегетационного сезона 2014 года оказались наиболее благоприятными для развития бурой ржавчины, развитие которой на сорте Ленинградская 6 составило — 4,1–11,8%; на сорте Дарья — 33,8–39,3%. Септориоз в этом году был развит в слабой степени. На посевах яровой пшеницы сорта Ленинградская 6 развитие этого заболевания составило 1,5–2,2%; на сорте Дарья — 3,6–6,9%. Болезни проявились в этом году в сроки, аналогичные прошлым двум вегетационным сезонам. Среднедекадные показатели за 1-ю и 2-ю декаду июля составили: температура воздуха — 19,7–17,7 °С, относительная влажность воздуха — 65–68%, осадки — 7,8–10,9 мм. Такие погодные условия были абсолютно не приемлемы для развития мучнистой росы, но являлись довольно благоприятными для развития бурой ржавчины, которая и преобладала в фитопатогенном комплексе в этом году.

В 2015 году на посевах сорта Ленинградская 97 развитие мучнистой росы составило 7%, на сорте Дарья — 8,4%. Развитие септориоза на сорте Ленинградская 97 было на уровне 4%; септориозно-пиренофорозной пятнистости на сорте Дарья — 15,5%. Болезни в этом году проявились раньше, чем в предыдущие три. Первые признаки были отмечены еще в 3-й декаде июня — 1-й декаде июля. Среднедекадные показатели за 2-ю — 3-ю декаду июля составили: температура — 15,2–16,6 °С,

относительная влажность воздуха — 78%, осадки — 5,1–16 мм. Для развития болезней этот год по климатическим условиям был не благоприятен, прежде всего, из-за низких температурных показателей во 2–3-ю декаду июня, а также не стабильной температуры воздуха в течение июля, когда средняя температура колебалась в пределах 14,9–17,2 °С. Влажность воздуха в этом месяце была на уровне 68–76% с количеством осадков от 19,3 до 29,7 мм.

В 2016 году развитие септориозно-пиренофорозной пятнистости на посевах яровой пшеницы сорта Дарья было на уровне 23,9%, мучнистой росы — 3,3%. Эти болезни появились в 1–2-й декадах июля. С 3-й декады июня по 2 декаду июля среднедекадные показатели составили: температура воздуха — 17,2–18,5 °С, относительная влажность воздуха — 79–83%, осадки — 31,7–49,9 мм. Такие погодные условия были крайне неблагоприятны для развития бурой ржавчины, развитие мучнистой росы сдерживалось прежде всего частыми дождями, но самыми благоприятными такие условия оказались для развития пятнистостей, которые и превалировали в фитопатогенном комплексе пшеницы яровой в этом вегетационном сезоне.

В 2017 году развитие септориозно-пиренофорозной пятнистости было на уровне 11,8%, а мучнистой росы — 2,1%. Первые признаки проявления болезней были отмечены в 1-й декаде июля. Среднедекадные показатели с 3-й декады июня по 3-ю декаду июля находились в пределах: 12,9–17,1 °С (температура воздуха); 74–81% (относительная влажность воздуха) и 13,3–30 мм (осадки). Несмотря на то, что по увлажнению создавались в целом благоприятные условия для развития пятнистостей и мучнистой росы, развитие этих заболеваний сильно ограничивала сравнительно низкая температура воздуха.

В наших исследованиях на посевах яровой пшеницы наблюдалось ежегодное проявление фитопатогенного комплекса, который в зависимости от погодных условий был различным. Наибольшее экономическое значение при этом имели бурая ржавчина и пятнистости листьев, преобладание которых было обусловлено температурными показателями и характером увлажнения того или иного вегетационного сезона. Развитие мучнистой росы в годы проведения исследований было слабым.

Опрыскивание высокоэффективными фунгицидами позволяет не только успешно бороться свыше обозначенными возбудителями болезней, но и предотвращать их проявление в годы с благоприятными для их развития агроклиматическими условиями. В связи с тем, что на посевах яровой пшеницы в период вегетации в Ленинградской области наблюдается ежегодное проявление комплекса листовых болезней, существует необходимость применения одно-двукратной обработки фунгицидами до появления болезней или при появлении первых признаков проявления заболеваний. Выбор препарата для проведения обработок следует осуществлять исходя из складывающейся фитосанитарной обстановки и экономической возможности хозяйства.

Список литературы

1. Мильков, Ф.Н., Физическая география СССР. Общий обзор. Европейская часть СССР, Кавказ / Ф.Н.

- Мильков, Н.А. Гвоздецкий // 5-е изд. — М. — Высш. Школа. — 1986. — 376 с.
2. Большая Советская Энциклопедия, под ред. Прохорова А.М., М.: «Советская Энциклопедия». — 1973. — 624 с.
 3. Советский Энциклопедический Словарь, под ред. Прохорова А.М., М.: — «Советская Энциклопедия». — 1984. — 1600 с.
 4. Гульятеева, Е.И. Болезни зерновых культур в Северо-Западном регионе России /Е.И. Гульятеева, М.М. Левитин, Н.Ф. Семенякина, Н.В. Никифорова, Н.И. Савельева // Защита и карантин растений. — 2007. — № 6. — С. 15–16.
 5. Гульятеева, Е.И. Фитосанитарная ситуация на посевах зерновых культур в Северо-Западном регионе /Е.И. Гульятеева, М.М. Левитин, Н.Ф. Семенякина, Н.В. Никифорова, Е.В. Казакевич // Защита и карантин растений. — 2008. — № 6. — С. 50–51.
 6. Гульятеева, Е.И. Болезни зерновых культур и рапса в Северо-Западном регионе в 2016 г./Е.И. Гульятеева, Е.Л. Гасич, М.М. Левитин, И.В. Маслова, О.А. Колесникова, М.П. Вусатюк, Е.Л. Шайдаюк, М.М. Гомжина, Н.П. Шипилова // Защита и карантин растений. — 2017. — № 4. — С. 27–29.
 7. Гульятеева, Е.И. Болезни зерновых культур в Северо-Западном регионе в 2017 г. /Е.И. Гульятеева, Е.Л. Шайдаюк, Н.П. Шипилова, М.М. Левитин, И.В. Маслова, М.П. Вусатюк, О.А. Колесникова // Защита и карантин растений. — 2018–№ 4. — С. 19–21.
 8. Левитин М.М., Тютюрев С.Л. Грибные болезни зерновых культур /М.М. Левитин, С.Л. Тютюрев// Приложение к журналу «Защита и карантин растений». — 2003–№ 11. — с. 57–68.

ОСОБЕННОСТИ МЕЖВИДОВЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ *SARCODONTIA CROCEA* И ПОТЕНЦИАЛЬНО КОНКУРЕНТНЫХ КСИЛОТРОФНЫХ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В УСЛОВИЯХ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ

Шахова Н.В., Волобуев С.В.

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

Sarcodontia crocea (Schwein.) Kotl. (*Polyporales*, *Basidiomycota*) — ксилотрофный базидиомицет с выраженной фитопатогенной активностью, развивающийся преимущественно на стволах листовых древесных пород. Гриб обычно колонизирует фруктовые деревья, в основном *Malus* spp., реже *Pyrus* spp. и представителей рода *Prunus* (Eriksson et al., 1981, Volobuev et al., 2015), вызывая белую гниль. Отмершие базидиомы *S. crocea* отмечают также на толстых сухих ветвях и сухостойных стволах деревьев, для которых данный вид является основной причиной усыхания и гибели (Волобуев и др., 2019). *S. crocea* относительно редко встречается в странах Центральной и Северной Европы (Szczepkowski et al., 2017), однако в условиях Центрального Черноземья России имеются значительные площади заброшенных садов или садовых хозяйств, которые не получают должный садоводческий и фитосанитарный уход и являются зонами массового расселения этого фитопатогена. До настоящего времени недостаточно изучены остаются вопросы биологии и аутоэкологии данного вида, в том числе необходимые для разработки мер по контролю и борьбе с его распространением в садовых агроценозах.

Целью настоящего исследования является получение культурально-морфологической характеристики и изучение антагонистической активности *Sarcodontia crocea* по отношению к другим видам ксилотрофных базидиомицетов, также развивающихся на живых яблонях, при культивировании на агаризованных питательных средах.

В работе был использован дикариотический штамм LE-BIN 2138 *Sarcodontia crocea*, выделенный из базидиомы, растущей на живом дереве *Malus domestica*. В качестве потенциально конкурирующих с *S. crocea* видов

были отобраны *Aurantiporus fissilis* (Berk. & M.A. Curtis) Donk, *Cerioporus squamosus* (Huds.) Quél., *Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire и *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd, способных поражать живые яблони в условиях *in situ*. Исследуемые дикариотические штаммы хранятся в Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (LE-BIN) с использованием метода субкультуры на сусло-агаре и дискового метода в дистиллированной воде при 4°C, а также метода криоконсервации при –80°C (Шахова, Псурцева, 2016).

Для культурально-морфологической характеристики и измерения линейной скорости роста штаммы выращивали в ч. Петри d=90 мм на стандартной агаризованной среде мальц-экстракт агар (МЭА, «Conda»), агаризованной (2%) глюкозо-пептонной среде (ГПА) (г/л): пептон — 1.5, глюкоза — 5.0, KH_2PO_4 –0.6, K_2HPO_4 –0.4, ZnSO_4 –0.001, FeSO_4 –0.0005, MnSO_4 –0.05, MgSO_4 –0.5; pH 5.8 и модифицированных полусинтетических средах, аналогичных ГПА, но на основе водных вытяжек из щепы яблони («*Malus*») и груши («*Pyrus*») в качестве источника углерода (конечная концентрация углерода в средах соответствовала ГПА). Посев штаммов проводили мицелиальными блоками (d=7 мм), помещая их на питательную среду в центре ч. Петри мицелиальным слоем вниз. Штаммы культивировали в темноте в термостате при 25 °С. Изучение скорости роста проводили в течение 28 суток, измеряя диаметр колонии (в мм) в двух взаимно перпендикулярных плоскостях начиная с 3 суток через день до полного застарения ч. Петри. Макро- и микроморфологические особенности колоний характеризовали на 14 сутки роста культуры согласно общепринятым методам (Stalpers, 1978).

Для изучения межвидовых взаимодействий исследуемые штаммы выращивали в чашках Петри d=90 мм на МЭА. Посев культур проводили попарно высечками из краевой зоны активно растущей колонии, помещая их на расстоянии 25 мм друг от друга, в ч. Петри мидиальным слоем вниз. Культивирование штаммов осуществлялось путем подсаживания одного штамма к другому в разное время (в зависимости от скорости роста) для одномоментного достижения ими середины ч. Петри. Результаты срачивания оценивались визуально и посредством сравнения с контролем линейных скоростей роста штаммов при парном культивировании. В качестве контроля принимали собственные скорости роста культур (self-пары). Статистический анализ полученных результатов произведен с помощью пакета программ Origin 7.5 и Microsoft Excel.

В результате исследования показано, что скорость роста на средах МЭА и ГПА у большинства штаммов, вовлеченных в эксперимент, была сходной (исключение составил LE-BIN 3964 *Cerrioporus squamosus*, обнаруживший снижение ростовых параметров при культивировании на ГПА). Наименьшей скоростью роста на исследованных средах обладал штамм LE-BIN 2138 *S. crocea*: на 7 сутки диаметр колоний составлял 21.3, 19.3, 13.8 и 10.0 мм на средах МЭА, ГПА, «Malus» и «Pyrus»

и «Pyrus» соответственно. Полное зарастание ч. Петри (90 мм) LE-BIN 2138 *S. crocea* наступало на 17–31 сутки, а при выращивании на среде «Pyrus» наступала остановка роста колонии на 17 сутки культивирования (рис. 1). Штамм LE-BIN 0239 *Phellinus pomaceus* также характеризовался медленным ростом на МЭА и ГПА: на 7 сутки диаметр колоний данного штамма не превышал 30.0 мм, а полное зарастание ч. Петри наступало на 21 сутки. При культивировании *P. pomaceus* на полусинтетических средах «Malus» и «Pyrus» наблюдалась остановка роста колонии на 19 сутки. Штаммы LE-BIN 4002 *Aurantiporus fissilis*, LE-BIN 3964 *C. squamosus* и LE-BIN 4122 *Trametes hirsuta* продемонстрировали высокую скорость роста на всех исследуемых средах, полное зарастание ч. Петри наступало на 7–14 сутки культивирования. Следует заметить, что скорость роста LE-BIN 3964 *C. squamosus* была выше на средах «Malus» и «Pyrus», чем на ГПА (рисунок).

Показано, что при культивировании штаммов на питательных средах различного состава наблюдается существенная вариабельность макроморфологии колоний изучаемых видов грибов. Все исследуемые штаммы, при выращивании на полусинтетических сре-

Рисунок — Скорость линейного роста дикариотических штаммов на разных средах

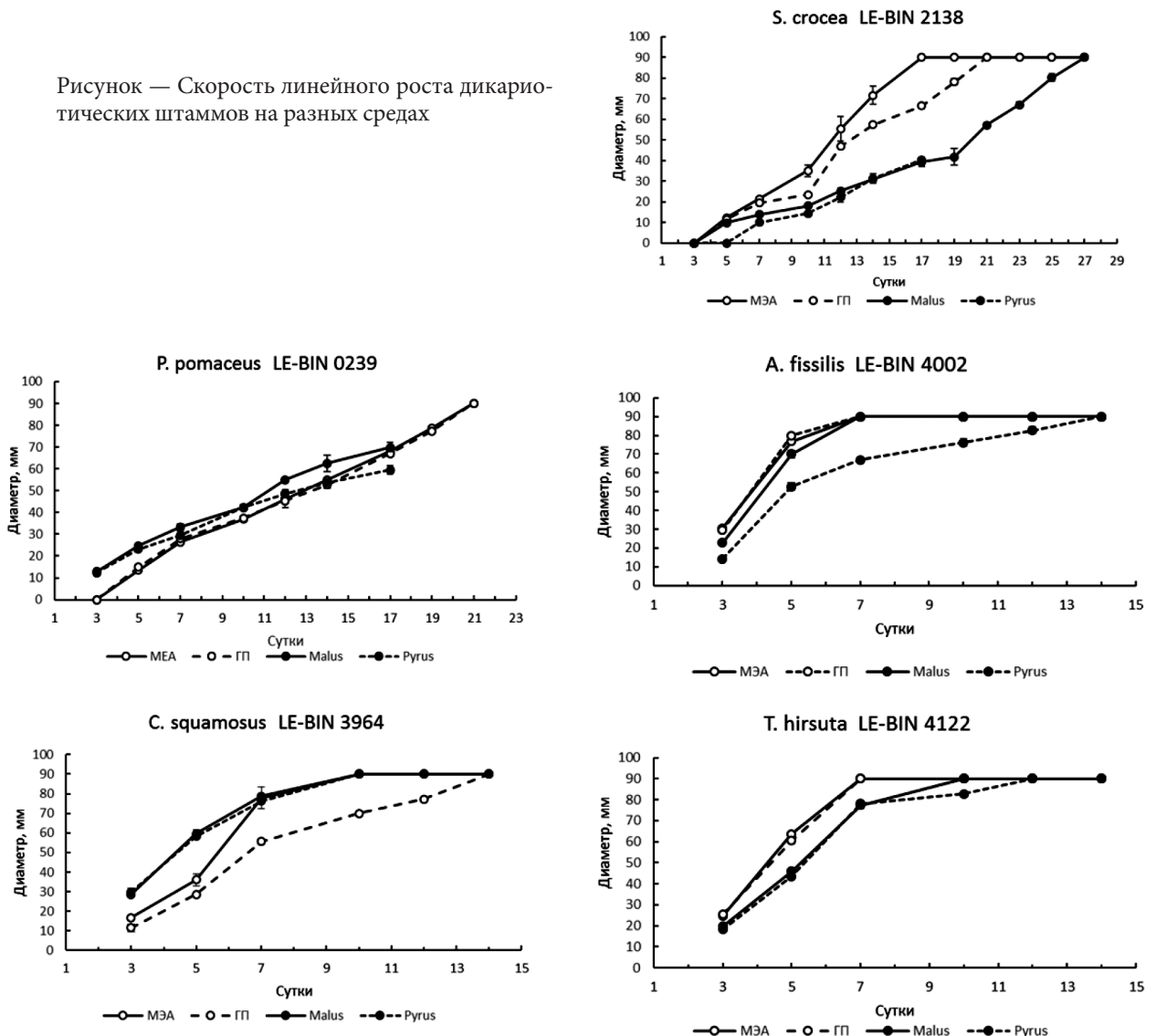


Таблица — Потенциально конкурентные ксилотрофные фитопатогены и их взаимоотношения с *Sarcodontia crocea* в условиях культивирования на среде МЭА

Вид	Экологическая группа	Штамм LE-BIN	Результат взаимодействия с <i>S. crocea</i>
<i>Aurantiporus fissilis</i> (Berk. & M.A. Curtis) H. Jahn ex Ryvardeen	Факультативный сапротроф, гигрофил	4002	Вытеснение и замещение штаммом-оппонентом <i>A. fissilis</i>
<i>Cerioporus squamosus</i> (Huds.) Quéf.	Факультативный патоген, мезофил	3964	Паритетный исход (dead-lock)
<i>Phellinus pomaceus</i> (Pers.) Maire	Патоген, ксерофил	0239	Частичное вытеснение штамма-оппонента <i>P. pomaceus</i>
<i>Trametes hirsuta</i> (Wulfen) Lloyd	Факультативный патоген, ксерофил	4122	Частичное вытеснение штаммом-оппонентом <i>T. hirsuta</i>

дах, характеризовались изменением цвета и внешнего вида колоний по сравнению с результатами культивирования на МЭА. Наблюдалась пигментация колоний, мицелиальный мат становился более разреженным и погруженным. Кроме того, при культивировании штаммов на полусинтетических питательных средах наблюдалось изменение реверзума (в сторону осветления). При этом морфология гиф почти не зависела от среды культивирования. Микропризнаки штаммов, выращенных на полусинтетических средах, отличались присутствием большего количества гифальных вздутий и анастомозов, но были в целом стабильны и характерны для грибов исследуемых видов. Полученные культурально-морфологические характеристики послужили основой для верификации штаммов и контроля чистоты вегетативного мицелия в условиях культуры.

Наиболее частым исходом совместного культивирования штамма LE-BIN 2138 *S. crocea* со штаммами других потенциально конкурентных видов ксилотрофных грибов на агаризованной среде МЭА оказалось частичное или полное вытеснение LE-BIN 2138 *S. crocea* штаммами-антагонистами LE-BIN 4002 *A. fissilis* и LE-BIN 4122 *T. hirsuta* (табл. 1).

При выращивании *S. crocea* с *T. hirsuta* на среде МЭА контакт обеих колоний произошел на 11 сутки культивирования. Далее (начиная с 12 суток) наблюдалось частичное вытеснение штамма LE-BIN 2138 *S. crocea* штаммом-антагонистом LE-BIN 4122 *T. hirsuta*, сопровождающееся изменением макроморфологии колоний в виде образования мицелиального валика (барраж) в месте их контакта.

В результате совместного культивирования LE-BIN 2138 *S. crocea* с штаммом-оппонентом LE-BIN 4002 *A. fissilis* на 11 сутки произошел контакт мицелиев обеих штаммов, сопровождающийся изменением пигментации и остановкой роста штамма LE-BIN 2138 *S. crocea*. С 12 суток срачивания двух колоний наблюдалось частичное замещение, а с 14 суток — вытеснение штамма LE-BIN 2138 *S. crocea* штаммом-антагонистом LE-BIN 4002 *A. fissilis*.

При культивировании LE-BIN 2138 *S. crocea* с штаммом потенциально конкурентного ксилотрофного гриба *P. pomaceus* колонии встретились на 10 сутки. В зоне колонии LE-BIN 2138 *S. crocea*, близкой к контакту с мицелием LE-BIN 0239 *P. pomaceus*, было отмечено обильное образование артроконидий 10.0–10.5 x 3.0–3.5 мкм, вздутых (обычно с одного конца), иногда имеющих

утолщенную клеточную стенку. Морфология гиф *P. pomaceus* не претерпевала существенных изменений на 10 сутки совместного культивирования с *S. crocea*. С 12 суток наблюдалось частичное вытеснение штамма-оппонента LE-BIN 0239 *P. pomaceus* штаммом LE-BIN 2138 *S. crocea*. На данном этапе срачивания штамм LE-BIN 0239 *P. pomaceus* претерпевал заметные изменения в макроморфологии колоний, выражавшиеся в уплотнении текстуры мицелиального мата *P. pomaceus* и формировании барража с мицелием LE-BIN 2138 *S. crocea*, при этом в зоне контакта наблюдалось образование мицелиальных тяжей.

В результате взаимодействия LE-BIN 2138 *S. crocea* с LE-BIN 3964 *C. squamosus* был показан паритетный исход (dead-lock) (Hiscox et al., 2018) парного культивирования данных штаммов. Контакт колоний обоих видов грибов произошел на 10 сутки роста. На 12 сутки культивирования наблюдалось образование барража в паре штаммов и заметные макроморфологические изменения колоний, заключающиеся в пигментации мицелия обоих грибов и перераспределении плотности мицелия у *C. squamosus*.

В большинстве случаев срачивания наблюдались изменения макроморфологии *Sarcodontia crocea*, в то время как гифальная структура штаммов-антагонистов оставалась неизменной. Таким образом, при культивировании на среде МЭА *Sarcodontia crocea* оказался умеренным антагонистом, не способным к подавлению потенциально конкурентных видов ксилотрофных базидиомицетов (*Aurantiporus fissilis* и *Trametes hirsuta*), однако более агрессивным к имеющему сходную субстратную приуроченность конкурентному виду *Phellinus pomaceus*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых — кандидатов наук (МК–3216.2019.11).

Список литературы

1. Eriksson J., Hjortstam K., Ryvardeen L. Vol. 6. Phlebia — Sarcodontia // The Corticiaceae of North Europe. Oslo: Fungiflora, 1981. P. 1051–1276.
2. Volobuev S. V., Logachev A. A., Mushnikov N. V., Okun M. V. New records of aphyllorphoid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) from the Les na Vorskla area of the Belogor'e Nature Reserve (Belgorod

- Region, Russia) // Folia Cryptogamica Estonica. 2015. Fasc. 52. P. 89–93.
3. Волобуев С. В., Большаков С. Ю., Шахова Н. В. Мониторинг ксилотрофных базидиомицетов — фитопатогенов семечковых плодовых культур в Белгородской области // Материалы XXI Международной научной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и юга России» (г. Магас, 15–18 ноября 2019 г.) / отв. ред. М. К. Дакиева. Магас, 2019. С. 42–45.
 4. Szczepkowski A., Gierczyk B., Borowski J., Neubauer G. New localities of *Sarcodontia crocea* (Polyporales, Basidiomycota) in Poland // Acta Mycologica. 2017. Vol. 52, № 1. Art. 1090.
 5. Шахова Н. В., Псурцева Н. В. Культуральные свойства и биотехнологический потенциал штаммов *Steccherinum ochraceum* (Pers.) Gray из коллекции LE-BIN // Биология, систематика и экология грибов и лишайников в природных экосистемах и агрофитоценозах: материалы II Международной научной конференции. Минск, 2016. С. 282–287.
 6. Hiscox J., O’Leary J., Boddy L. Fungus wars: basidiomycete battles in wood decay // Studies in mycology. 2018. Vol. 89. P. 117–124.
 7. Stalpers J. A. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture // Studies in Mycology. 1978. Vol. 16. P. 1–248.

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В ПОЧВЕ СВЕКЛОВИЧНОГО АГРОЦЕНОЗА

Шамин А.А., Стогниенко О.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова, Рамонь

Только при условии постоянного поддержания в определенных пределах параметров среды, в том числе видового состава и плотности популяций вредных организмов (фитопатогенных видов грибов) искусственно созданные биоценозы (агроценозы) могут функционировать с заданной производительностью. Выявление отдельных тенденций и механизмов влияния приемов земледелия (абиотических факторов) на инфекционную нагрузку (численность фитопатогенных видов грибов) почвы и ризосферы может способствовать снижению распространенности болезней и достижению эффективного функционирования агроценоза [1; 2].

В структуре почвенных грибов чернозема выделенного в агроценозе сахарной свеклы доминировали: *Fusarium oxysporum* Schlecht., *F. solani* (Martin) App. et Wr., *Gliocladium* sp. Pidopl., *Mortierella* sp. Coem., *P. digitatum* Sacc., *P. cyclopium* Westl., *T. viride* Pers. Среди них наибольшая численность установлена у грибов рода *Penicillium* (более 69,7 тыс. КОЕ/ 1г). Из представителей этого рода наибольшего количества достигал вид, обладающий фитотоксическими свойствами *P. cyclopium* — до 20 тыс. КОЕ / 1 г почвы, а частота встречаемости доходила в июле до 100% (табл. 1).

Таблица 1 — Частота встречаемости микроскопических грибов в почве свекловичного агроценоза (ВНИИСС, 2016–2018)

Вид, род	Частота встречаемости,%		
	июнь	июль	октябрь
<i>Absidia</i> sp. van Tiegh.	25,0	33,3	37,5
<i>Mucor</i> sp. Mich.	50,0	62,5	43,8
<i>Rhizopus stolonifer</i> Ehrenb.	25,0	75,0	56,3
<i>Acremonium</i> sp. Link ex Fr.	50,0	41,7	33,3
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl	93,8	93,8	81,3

Окончание табл. 1

Вид, род	Частота встречаемости,%		
	июнь	июль	октябрь
<i>Aspergillus</i> sp. Mich. ex Fr.	75,0	87,5	50,0
<i>A. candidus</i> Link.	25,0	43,8	31,3
<i>A. flavus</i> Link.	41,7	41,7	37,5
<i>Cladosporium herbarum</i> Link ex Fr.	25,0	58,3	41,7
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	93,8	100,0	75,0
<i>F. solani</i> (Martin) App. et Wr.	87,5	100,0	75,0
<i>F. gibbosum</i> App. et Wr.	25,0	50,0	58,3
<i>Gliocladium</i> sp. Pidopl.	43,8	68,8	62,5
<i>Mortierella</i> sp. Coem.	31,3	56,3	50,0
<i>Penicillium digitatum</i> Sacc.	62,5	81,3	68,8
<i>P. cyclopium</i> Westl.	75,0	100,0	56,3
<i>P. expansum</i> (Link) Thom	87,5	100,0	81,3
<i>P. chrysogenum</i> Thom	75,0	87,5	68,8
<i>P. purpurogenum</i> Stoll	56,3	56,3	37,5
<i>P. commune</i> Thom	33,3	62,5	43,8
<i>Penicillium</i> ssp. Link.	25,0	43,8	50,0
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	81,3	100,0	87,5

На долю *Fusarium* sp. (основных возбудителей гнилей корнеплодов сахарной свеклы) приходилось 15–18% от общей численности грибов почвы (до 80 тыс. КОЕ / 1 г). Такие виды как *F. oxysporum* и *F. solani* обладали самой высокой временной частотой встречаемости, которая не снижалась ниже 75% за три года исследований.

В двухфакторном полевом опыте (восприимчивость гибрида к болезням корневой системы, наличие обработки семян фунгицидными протравителями) уста-

новлено влияние на численность почвенных грибов. Для исследований использовались: слабосприимчивый к болезням корневой системы — гибрид F_1 РМС 120 и восприимчивый гибрид F_1 — Гранате. Все семена обработаны инсектицидами Круйзер, КС (600 г/л) из расчета 25 л/т и Форс, МКС (200 г/л) — 30 л/т. Каждая партия разделялась на две части: одна часть обрабатывалась разрешенными к использованию фунгицидными протравителями (Тачигарен, СП (700 г/кг) — 21 кг/т; ТМТД, ВСК (400 г/л) — 15 л/т), вторая без обработки.

В посевах со слабосприимчивым к гнилям гибридом численность грибов почвы была ниже и в варианте с фунгицидом (на 20,7 тыс. КОЕ / 1 г), без них (на 14,2 тыс. КОЕ / 1 г). Численность грибов рода *Fusarium* увеличилась на 20,7% по сравнению с майскими отборами и достигала 51,2 тыс. КОЕ/1 г, практически 5-я часть комплекса. Наименьшая численность *Fusarium sp.* выявлена в варианте с устойчивым гибридом РМС 120 и предпосевной протравкой семян фунгицидами. В середине вегетации (июль) происходило увеличение общей численности грибов по сравнению с началом вегетации на 30–41%. В вариантах без фунгицидов увеличение произошло более чем на 122 тыс. КОЕ / 1 г почвы. Увеличение общей численности почвенных грибов в варианте с неустойчивым гибридом (Гранате) произошло более чем на 158 тыс. КОЕ / 1 г почвы (40%), в посевах с РМС 120 оно было на 10% меньше (табл. 2).

Таблица 2 — Влияние устойчивости гибрида сахарной свеклы на численность почвенных грибов (тыс. КОЕ/1г абс. сух. почвы) (ВНИИСС, 2016–2018 гг.)

Вариант	Гибрид сахарной свеклы			
	Восприимчивый		Слабосприимчивый	
	1	2	1	2
июнь				
Всего грибов	225,9	291,3	205,2	277,2
в т.ч. <i>Fusarium sp.</i>	25,4	51,2	19,2	45,1
июль				
Всего грибов	384,3	414,2	331,9	400,6
в т.ч. <i>Fusarium sp.</i>	61,8	81,5	44,1	65,2
октябрь				
Всего грибов	250,6	287,7	214,5	267,1
в т.ч. <i>Fusarium sp.</i>	42,8	62,5	29,6	48,8

Примечание: 1 — на семена нанесены фунгициды;
2 — на семена не наносились фунгициды;

Численность *Fusarium sp.* в почве в вариантах без нанесения фунгицидов была на 24–32% выше численности в вариантах с фунгицидами (19–21 тыс. КОЕ / 1 г). 94–100% достигала частота встречаемости. В варианте с устойчивым гибридом численность *Fusarium sp.* была меньше на 27–46% (44,1 тыс. КОЕ/1 г). Именно в июле были выделены небольшие группы иных видов фузариум объединенных в группу *Fusarium sp.* (до 3 тыс. КОЕ / 1 г). Это сказалось на увеличении численности грибов рода *Fusarium* в ризосфере и появлении фузариозных увяданий растений вплоть до уборки.

В конце вегетации доминирующими видами почвенной микобиоты оставались грибы *A. alternata*, *F. oxysporum*, *Mortierella sp.*, *P. cyclopium*, *P. expansum*. Наблю-

дилось снижение численности почвенных грибов по сравнению с серединой вегетации практически на 30% (117–133 тыс. КОЕ / 1 г). Разница в численности почвенных грибов в вариантах с фунгицидной обработкой и в вариантах без фунгицидной обработки значительно уменьшилась (37–52 тыс. КОЕ / 1 г). Изменение общей численности почвенных грибов в зависимости от гибрида находилось в пределах 20,6–36,2 тыс. КОЕ / 1 г. Численность *Fusarium sp.* также снизилась (до 29,7–62,5 тыс. КОЕ / 1 г). В варианте с гибридом РМС 120 и предпосевной обработкой семян фунгицидами упростился видовой состав рода *Fusarium*: были выделены только два вида *F. oxysporum* и *F. solani* частота встречаемости снизилась до 75%. Численность фитопатогенов в данном варианте была минимальна и составила 29,7 тыс. КОЕ / 1 г.

Установлены доли влияния изученных факторов на численность почвенных микроскопических грибов и в т.ч. основных патогенов *Fusarium sp.* Доля влияния обработки фунгицидом была наибольшей и достигала 74,5% при воздействии на общую совокупность грибов, 58,9% — на количество *Fusarium sp.* Влияние фунгицидной обработки семян в предуборочный период выражается в том, что растения, выросшие из обработанных семян, были в начале вегетации менее уязвимы, быстрее проходили ранние фазы развития, соответственно лучше развивались и к уборке были наиболее устойчивы к распространению гнилей. В таком агроценозе численность *Fusarium sp.* и сопутствующих фитопатогенов снижалась, а за счет этого снижалась и общая численность грибов. При этом заметна явная тенденция снижения доли влияния на число почвенных грибов от начала к концу вегетации на 10–20% (табл. 3).

Влияние генетической устойчивости гибрида к заболеваниям корневой системы было значимым и достигало в среднем 19–22%. При этом за вегетацию на фоне снижения роли фунгицидной защиты происходило существенное возрастание влияния устойчивости, особенно заметное по общей численности грибов. Доля влияния увеличилась в 3 раза, от 8 до 27%. Доля влияния устойчивости на фитопатогены достигала наибольшего значения в октябре (в период уборки) и составляла 27,6%, когда особенно наглядно проявляется восприимчивость корнеплодов к гнили. Совместное влияние факторов, было значимым только в период развития корнеда на ранних этапах вегетации (до 11,5%) (табл. 4).

Доли влияния изученных факторов на распространение гнилей и общую численность грибов в почве были близкими по величине. Доля влияния устойчивости гибрида на распространенность составила 22,8%, на численность — 22,0%. Доля влияния фунгицидной на распространенность — 62,5%, численность — 62,3%. Это свидетельствует о тесной взаимосвязи данных показателей и их зависимости от изученных в опыте факторов.

Таким образом, использование гибрида сахарной свеклы устойчивого к болезням в сочетании с предпосевной фунгицидной обработкой семян, влияет на инфекционную нагрузку и численность фитопатогенных видов грибов в почве свекловичного агроценоза, тем самым определяя в дальнейшем величину распространенности гнилей корнеплодов и потери урожая.

Таблица 3 — Доли влияния факторов (%) на численность почвенных грибов, (ВНИИСС, 2016–2018 гг.)

Фактор	Доля влияния фактора,%							
	на численность <i>Fusarium sp.</i>				на общую численность грибов			
	июнь	июль	октябрь	среднее	июнь	июль	октябрь	среднее
Гибрид	12,5	17,2	27,6	19,1	7,9	31,1	27,2	22,0
Фунгицид	50,6	56,4	41,2	49,3	74,5	58,9	53,4	62,3
Взаимодействие факторов	11,5	3,0	6,1	6,9	10,7	6,2	11,3	9,4
Остаток (ошибки)	25,4	23,4	25,2	24,7	6,9	3,8	8,1	6,3
Итого,%	100	100	100	100,0	100	100	100	100,0

Таблица 4 — Доли влияния факторов на распространенность (Р) болезней корневой системы сахарной свеклы,% (ВНИИСС, 2016–2018 гг.)

Фактор	Доля влияния фактора,%							
	2016		2017		2018		среднее	
	корнеед	гнили	корнеед	гнили	корнеед	гнили	корнеед	гнили
Гибрид	1,9	20,5	2,6	26,4	2,7	21,5	2,4	22,8
Фунгицидный протравитель	41,1	68,2	57,6	48,9	92,0	70,3	63,6	62,5
Взаимодействие	0	4,1	3,5	4,6	2,6	0,0	2,0	2,9
Прочие	57	7,2	36,3	20,1	2,7	8,2	32,0	11,8
итого	100	100	100	100	100	100	100	100

Список литературы

- Ижевский, С.С. Негативные последствия применения пестицидов / С.С. Ижевский // Защита и карантин растений. — 2006. — № 5. — С. 16–19.
- Шамин А.А. Влияние агротехники возделывания на накопление фитопатогенов в почве свекловичного агроценоза и развитие болезней сахарной свеклы / Стогниенко О.И., Шамина А.А. // Агротехниче-
- ский метод защиты растений от вредных организмов: материалы VI международной науч.-практ. конф., Краснодар 17–21 июля 2013 г. — С. 111–114.
- Шамин А.А. Влияние структуры популяции почвенных грибов на развитие болезней сахарной свеклы и фитотоксичность чернозема / А.А. Шамин, Стогниенко О.И. // Защита и карантин растений. — 2017, №3, С. 24–27.

СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ НА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЕ В РОССИИ ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ МАРКЕРАМ

Шайдаюк Е.Л.

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Одним из факторов, ведущих к недобору урожая твердой пшеницы, является поражение ее болезнями. Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.) — распространенное заболевание твердой пшеницы во всех регионах ее выращивания [1]. В России степень развития бурой ржавчины на твердой пшенице варьирует по годам и регионам [2,3]. Популяции возбудителя бурой ржавчины, обитающие на твердой пшенице, охарактеризованы по признаку вирулентности и полиморфизму микросателлитных локусов во многих странах [4,5]. В России исследования популяций *P. triticina* на твердой пшенице проводились только по признаку вирулентности на Дагестанской опытной станции ВИР в 1970–1980 гг. [6]. Сведения о вирулентности патогена в других регионах РФ, где выращивается твердая пшеница, отсутствуют.

Целью данной работы являлось изучение структуры популяций возбудителя бурой ржавчины на твер-

дой пшенице по признаку вирулентности и микросателлитным маркерам.

Инфекционный материал был собран на твердой пшенице в 2017–2019 гг. в 4 регионах РФ (табл.).

Выделение и размножение монопустульных изолятов проводили с использованием проростков восприимчивых сортов твердой и мягкой пшеницы, выращиваемых в сосудах с почвой и по методике лабораторного культивирования патогена [7]. В анализе вирулентности *P. triticina* использовали 38 почти изогенных линий Thatcher и сортов с генами *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr23*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr41*(=39), *Lr42*, *Lr44*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr48*, *Lr49*, *Lr50*, *Lr51*, *Lr52* (=W), *Lr53*, *Lr57* и *Lr64*.

Учет типа реакции проводили через 10–12 дней после заражения по балловой шкале Е.В. Mains и Н. S. Jackson [8], где: 0 — отсутствие симптомов; 0; — некрозы без пустул; 1 — очень мелкие пустулы, окруженные

некрозом; 2 — пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 — пустулы среднего размера без некроза, 4 — крупные пустулы без некроза, X — пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения с типом реакции 0–2 относили к устойчивым, 3–4 и X к восприимчивым.

Фенотипы определяли на 20 TcLr-линиях. Для обозначения фенотипов TcLr-линии были разделены на пять групп: I — Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr3a; II — Lr9, Lr16, Lr24, Lr26; III — Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, IV — Lr2b, Lr3bg, Lr14a, Lr14b; V — Lr15, Lr18, Lr19, Lr20. Первые три группы набора соответствовали североамериканскому набору [4], другие две включали линии, эффективные для дифференциации российских популяций *P. triticina* [9–10].

Статистическую обработку результатов анализа вирулентности проводили в пакете программ VirulenceAnalysisTool (VAT) [11]. Определяли буквенный код фенотипов (рас), частоты вирулентности и фенотипов, индексы разнообразия (Нея (Nei Diversity, Hs), Шеннона (Sh), Космана (Kosman diversity within (KW)) и генетических дистанций (Нея (Nei distance, N_d), Роджерса (Rogers distance, R), Космана (Kosman distance KBm)).

Выделение ДНК из спорового материала гриба проводили согласно методике А.Е. Justesen с соавторами [12]. Для деструкции спор использовали гомогенизатор FastPrep®–24. Для молекулярных исследований отобрали 11 SSR-маркеров: PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR68, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR151A, PtSSR152, PtSSR158, RB8, RB26 [5].

Для характеристики разнообразия коллекций *P. triticina* по микросателлитным локусам использовали общепринятые в генетико-популяционных исследованиях показатели: среднее число аллелей (Na), число эффективных аллелей (Ne), ожидаемая (He) и наблюдаемая (Ho) гетерозиготность, индекс фиксации (F) и индекс Шеннона (I). Различия между коллекциями изолятов проводили с использованием индексов Нея (Nei genetic distance, N_d), Космана (KBm) и Fst. Статисти-

ческая обработка результатов SSR анализа выполнена с помощью пакета программ GenAlEx 6.5) (за исключением индекса KBm).

Всего изучено 474 монопустульных изолята. Все изученные изоляты были авирулентными к линиям с генами Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr9, Lr15, Lr16, Lr19, Lr24, Lr28, Lr29, Lr41, Lr45, Lr47, Lr51, Lr52, Lr53 и вирулентными к Lr1, Lr3a, Lr3bg, Lr3ka, Lr10, Lr11, Lr14a, Lr14b, Lr18, Lr30, Lr32, Lr33, Lr34, Lr48, Lr49, Lr64. Региональные популяции существенно различались между собой по вирулентности к линиям TcLr17 и TcLr44. Частоты вирулентности к линии TcLr17 в северокавказской популяции были существенно ниже, чем в волжских, уральских и западносибирских, а к линии TcLr44 — выше. Частоты вирулентности к TcLr20, TcLr23 и TcLr26 спонтанно варьировали во всех популяциях. Для линий TcLr23 и TcLr26 они были выше для всех популяций, чем для линии TcLr20.

В географически отдаленных регионах РФ на твердой пшенице выявлено 7 фенотипов *P. triticina*. Фенотип MCTKG (вирулентность (v) к TcLr: 1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 17, 18, 26, 30/ авирулентность (av) к TcLr: 2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 20, 24) отмечен во всех российских популяциях. Частота его была ниже на Северном Кавказе и выше на Урале и в Западной Сибири (25 и 47%). Фенотипы MBTKG (v/av TcLr: 1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 17, 18, 30/ 2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 20, 24, 26) и MCTKH (v/av; TcLr: 1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 17, 18, 20, 26, 30/ 2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 19, 24) были приурочены к азиатским регионам (Уральскому и Западно-Сибирскому). Фенотип MCRKG доминировал на Северном Кавказе, и единично отмечен в Поволжье. Фенотип MCRKH (v/av TcLr: 1, 3a, 3bg, 3ka, 11, 14a, 14b, 18, 26, 30/ 2a, 2b, 2c, 9, 15, 16, 17, 19, 24) доминировал в Поволжье (78%) и был умеренно представлен в Северо-Кавказском регионе (23%).

Согласно всем индексам генетических дистанций изученные изоляты по признаку вирулентности объединились в 2 группы. Первую группу составляли все северокавказские (дагестанские, краснодарские, ро-

Таблица — Происхождение изолятов *Puccinia triticina* с твердой пшеницы

Регион	Место сбора	Год	Число образцов популяций	Изучено изолятов в анализе	
				вирулентность	SSR
Северо-Кавказский (СК)	Дагестан	2017	12	75	7
		2018	12	60	13
		2019	8	42	6
	Краснодарский край	2017	1	8	3
		2018	21	65	5
		2019	14	51	7
	Ростовская обл.	2018	4	32	7
2019		2	10	4	
Средневолжский (СВ)	Самарская обл.	2017	3	17	4
		2018	2	18	9
		2019	6	28	6
	Чувашия	2018	2	10	4
Уральский (У)	Челябинская обл.	2018	6	21	9
		2019	1	7	5
Западно-Сибирский (ЗС)	Алтайский край	2017	1	5	4
	Омская обл.	2018	4	25	12

стовские); вторую — уральские и западносибирские. Волжские изоляты умеренно отличались от обеих этих групп.

В процессе изучения вирулентности российских популяций *P. triticina* на твердой пшенице в 2017–2019 гг. была создана коллекция изолятов для проведения микросателлитного анализа. Она включала 105 монопустульных изолятов патогена из всех изученных регионов. В микросателлитном анализе использовали 11 маркеров. Полиморфизм оценили по 16 аллелям. Число аллелей в изученных локусах варьировало от 1 до 2. Аллельное разнообразие (Na, Ne) по SSR локусам было низким во всех выборках изолятов (Na=1,17–1,33; Ne=1,07–1,23). Уровень наблюдаемой гетерозиготности (Ho) был выше уровня ожидаемой (He), что подтверждается отрицательными значениями индекса фиксации (Fis).

Всего идентифицировано 12 SSR генотипов, среди них четыре (I, II, IV, VI) были наиболее распространенными. Генотип II определен во всех коллекциях изолятов *P. triticina*, за исключением омской. Генотип I доминировал в северокавказских коллекциях изолятов (64–73%), и был умеренно представлен в самарской (10%). Генотип IX был общим для всех азиатских образцов популяций; генотип III — дагестанской; генотип VII для краснодарской и челябинской. Генотип VIII отмечен только в уральской коллекции, где он доминировал по отношению к другим генотипами (49%), а генотипы X, XI, XII выявлены в дагестанской, самарской и омской коллекциях.

Согласно всем индексам генетических дистанций изученные коллекции изолятов объединились в две группы. В одну из них вошли все западносибирские и уральские изоляты. В другой группе изоляты распределились в две подгруппы. В первую вошли все северокавказские изоляты, а во вторую все волжские.

Согласно тесту Мантеля структура изученных популяций *P. triticina* по микросателлитным маркерам умеренно коррелировала со структурой в анализе вирулентности ($r=0.61$). Преимущественно это было связано с более близким сходством средневожских изолятов с северокавказскими по микросателлитным маркерам, чем по признаку вирулентности. Корреляция в структуре для азиатских и северокавказских коллекций изолятов была высокой по обоим показателям.

С использованием SSR маркеров впервые показано разделение российских популяций *P. triticina* на твердой пшенице по географическому происхождению на европейские и азиатские. Установлен интенсивный генный поток внутри европейской и внутри азиатской популяций, на что указывало высокое число общих генотипов и умеренный между двумя этими популяциями. Различия между азиатскими и европейскими популяциями по микросателлитным маркерам предполагают разное происхождение инфекции в этих регионах.

Исследования выполнены при частичной поддержке проекта РНФ № 19–76–30005.

Список литературы

1. Fernandez M.R., Knox R.E. Diseases of durum wheat In: Durum wheat (2nd edn). Chemistry and Technology, 2012: 57–71.
2. Розова М.А., Зиборов А.И., Егиазарян Е.Е., Барышева Н.В. Актуальные направления селекционных исследований по яровой твердой пшенице на Алтае. Сборник научных работ «Актуальные вопросы АПК Сибири: итоги и перспективы». Барнаул, 2015: 136–149.
3. Беляева М.В., Мальчиков П.Н., Мясникова М.Г., Шаболкина Е.Н. Иммуниетет, адаптивность и качество сортов яровой твердой пшеницы в Среднем Поволжье. Известия Самарской Государственной Сельскохозяйственной Академии, 2018; 4: 27–36.
4. Ordoñez M.E., Kolmer J.A. Virulence phenotypes of a worldwide collection of *Puccinia triticina* from durum wheat. Phytopathology, 2007a; 97(3): 344–351.
5. Ordoñez M.E., Kolmer J.A. Simple sequence repeat diversity of a worldwide collection of *Puccinia triticina* from durum wheat. Phytopathology, 2007b; 97: 74–583.
6. Дмитриев А.П., Михайлова Л.А., Шеломова Л.Ф., Деревянкин А.И. Исследование расового и генотипического состава дербентской популяции *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. в 1972–1973 гг. Микология и фитопатология, 1976; 10(4): 61–64.
7. Михайлова Л.А., Гульятёва Е.И., Мироненко Н.В. методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы. Сборник методических рекомендаций по защите растений Российская академия сельскохозяйственных наук. СПб.: ВИЗР, 1998: 105–126.
8. Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat; *Puccinia triticina* Erikss. Phytopathology, 1926; 16: 89–120.
9. Гульятёва Е.И., Аристова М.К., Шайдаюк Е.Л. и др. Генетическая дифференциация *Puccinia triticina* Erikss. на территории России. Генетика, 2017; 53(9): 1053–1060.
10. Гульятёва Е.И., Баранова О.А., Дмитриев А.П. Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в Российской Федерации в 2007 году. Вестник защиты растений, 2009; 4: 33–38.
11. Kosman E., Dinooor A., Herrmann A., Schachtel G.A. Virulence Analysis Tool (VAT) User Manual, 2008. Перимодоступа: <http://www.tau.ac.il/lifesci/departments/plants/memrs/kosman/VAT.html>
12. Justesen A.F., Ridout C.J., Hovmøller M.S. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. Plant Pathology, 2002; 51: 13–23.

ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *Puccinia triticina* НА ЮЖНОМ УРАЛЕШрейдер Е.Р.¹, Гултыяева Е.И.², Шайдаюк Е.Л.², Кушниненко И.Ю.¹¹ Челябинский НИИ сельского хозяйства, пос. Тимирязевский² Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Буряя ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.) — основное заболевание мягкой яровой пшеницы на Южном Урале. Вредоносность ее может достигать 37% [1]. Для успешной селекции на устойчивость к бурой ржавчине актуально проведение анализа вирулентности популяций патогена, что позволяет охарактеризовать эффективность генов устойчивости (*Lr*-генов), выявить новые расы и оценить динамику изменчивости.

Ежегодный мониторинг вирулентности *P. triticina* на районированных и перспективных сортах пшеницы проводится нами на Южном Урале с 2014 г. [2–3]. Цель данных исследований — анализ вирулентности челябинских популяций *P. triticina* в 2019 г. Листья с урединопустулами были собраны на селекционном участке Челябинского НИИ сельского хозяйства (ЧНИИСХ) с сортов и селекционных линий мягкой пшеницы Искра, Весна, Уральская 52, Уралочка, Эритроспермум 59, Нива 2, Дуэт, Памяти Рюба, Челябинская юбилейная, Уралосибирская, Ферругинеум 26635 и Эритроспермум 26764. Некоторые из этих сортов ежегодно используются нами в анализе вирулентности в качестве инфекционного материала, что позволяет оценить динамику фенотипического состава патогена на одних и тех же генотипах.

Образцы популяций с сухих листьев были реанимированы на универсально восприимчивом сорте яровой пшеницы Thatcher и клонированы. Размножение инфекционного материала проводили с использованием метода лабораторного культивирования гриба на отрезках листьев пшеницы [4]. Анализ вирулентности выполнен на растениях пшеницы (фаза первого листа) [3]. Тип реакции учитывали на 10–12 день после заражения по шкале E. V. Mains и H. S. Jackson [5], где 0 — отсутствие симптомов; 0 — некрозы без пустул; 1 — очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 — пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 — пустулы среднего размера без некроза, 4 — крупные пустулы без некроза, X — пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения с типом реакции X относили к восприимчивым.

Для изучения структуры популяции по фенотипическому составу использовали 20 *TcLr*-линий. Определение фенотипов вирулентности проводили по североамериканской системе (6). Для этого *TcLr*-линии были объединены в 5 групп по четыре линии в каждой: 1 — *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*; 2 — *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*; 3 — *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*; 4 — *Lr2b*, *Lr3bg*, *Lr14a*, *Lr14b*; 5 — *Lr15*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*. Дополнительно в анализ вирулентности включили линии с генами *Lr28*, *Lr29*, *Lr44* и *Lr47*, поскольку доноры некоторых из этих генов находят применение в селекции Челябинского НИИСХ.

Определение буквенного кода фенотипов, вычисление статистических индексов разнообразия проводили с использованием пакета программ Virulence Analysis Tool (VAT) [7]. Внутрипопуляционное разнообразие

челябинской популяции оценивали по индексу *KWm* (Kosman_diversity_within), характеризующему комплексное разнообразие по частотам вирулентности и фенотипическому составу. Различия между образцами челябинской популяции в 2014–2019 гг. определяли по индексу *KBm* (Kosman diversity between). Многомерная диаграмма генетического сходства между образцами челябинской популяции в 2014–2019 гг. построена в пакете программ GenAlEx (PCoA parametrs) (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html>) по индексу *KBm*.

Всего по признаку вирулентности в 2019 г. охарактеризовано 50 монопустульных изолятов. Эффективностью в фазе проростков характеризовались гены *Lr16*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29* и *Lr44*. Изолятов, вирулентных к линиям с данными генами, не выявлено. К группе неэффективных относились гены *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18* и *Lr30* (частота вирулентности 100%). Изменения челябинской популяции на мягкой пшенице, как и в предыдущие годы, затрагивали частоты вирулентности к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15*, *Lr9*, *Lr11*, *Lr20* и *Lr26* (табл.). Встречаемость изолятов, вирулентных к линиям *TcLr2b*, *TcLr2c* и *TcLr9* в 2019 г. была ниже по сравнению с предыдущими годами исследований, а к *TcLr26* выше. Для остальных *Lr*-генов не выявлено существенных изменений в частотах вирулентности (табл.). Все изоляты, вирулентные к линии *TcLr9*, были авирулентными к линии *TcLr26*. Соответственно, сочетание генов *Lr9* и *Lr26* остается эффективным в защите пшеницы от бурой ржавчины в Уральском регионе.

Среднее число аллелей вирулентности по отношению к 20 линиям-дифференциаторам в челябинской популяции *P. triticina* в 2019 г. составило 12,8, и было самым низким за весь период изучения (2018–13,5; 2017 г. — 14,9; 2016 г. — 14,0; 2015 г. — 16,7; 2014 г. — 15,8).

В челябинской популяции в 2019 г. выявлено восемь фенотипов: TCTTQ (18%), MCTKG, MLTKG, TCTTR (по 16%), MСРKG (10%), MCTKH, TLTTR, MBTKG (по 8%). Многие из них были общими с предыдущими годами исследований [3].

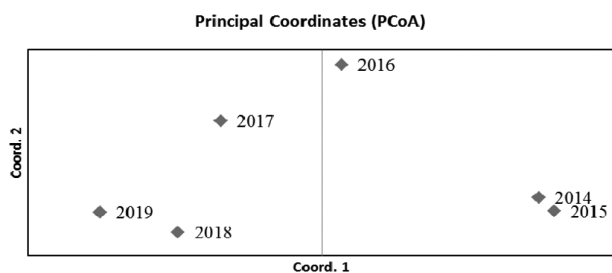
Согласно индексу Космана (*KWm*) челябинская популяция *P. triticina* в 2019 г. характеризовалась умеренным разнообразием (*KWm*=0,27). В 2018 г. этот показатель составлял 0,22; в 2017–0,37; в 2016 г. — 0,3; в 2015 г. — 0,05; в 2014 г. — 0,18. По степени сходства она была ближе к периоду 2018–2016 гг., (*KBm*=0,11; 0,11; 0,16 соответственно), чем к 2014–2015 гг. (0,24; 0,25). Многомерная диаграмма генетического сходства между образцами челябинской популяции в 2014–2019 гг. представлена на рисунке. Проведенный анализ указывает на определенную стабильность челябинской популяции возбудителя бурой ржавчины в 2016–2019 гг.

В полевых условиях Южного Урала в 2019 г. высокую устойчивость (поражение 0) показали линии Thatcher с генами *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr49*, *Lr51* и *Lr57*. На линиях *TcLr17*, *TcLr23*, *TcLr29* и *Lr64* отмечены единич-

Таблица. Частоты вирулентности *P. triticina* на Южном Урале в 2014–2019 гг. (%)

Линия Thatcher с геном <i>Lr</i>	2014	2015	2016	2017	2018	2019
1	88	100	76	100	100	100
2a	90	90	64	56	34	42
2b	98	90	76	64	90	42
2c	100	100	76	64	100	42
9	40	78	40	52	60	24
11	96	100	68	70	68	90
14b	84	96	100	100	100	100
15	90	100	64	56	34	42
16	96	96	90	42	0	0
18	64	100	100	100	100	100
19	0	0	0	2	0	0
20	68	100	72	54	26	32
24,28,29	0	0	0	0	0	0
26	16	4	44	44	40	68
3a, 3bg, 3ka, 14a, 17, 30	100	100	100	100	100	100

Рисунок — Многомерная диаграмма генетического сходства челябинских образцов популяций *P. triticina* в 2014–2019 гг. (по индексу Космана, Kbm)



ные пустулы патогена (поражение до 1%), а на линиях с генами *Lr2a*, *Lr14b*, *Lr32*, *Lr34*, *Lr48* — до 5%. На других линиях Thatcher развитие болезни варьировало от 10% до 80%. Названные высокоэффективные гены устойчивости могут быть рекомендованы для селекции на устойчивость к бурой ржавчине.

Исследования выполнены при финансовой поддержке проекта РФФИ №19–016–00052а.

Список литературы

1. Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р. Особенности технологии селекции мягкой яровой пшеницы на устойчивость к углеводно-белковому истощению семян и другим стрессам в условиях Южного Урала. Челябинск, 2010: 119с.
2. Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л. Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2017; 21(5): 523–529.
3. Гультяева Е.И., Шрейдер Е.Р., Шайдаюк Е.Л., Бондаренко Н.П. Мониторинг вирулентности и фенотипического состава популяции *Puccinia triticina* на Южном Урале в 2018 году. Вестник защиты растений, 2019; 2: 28–33.
4. Михайлова Л.А., Гультяева Е.И., Мироненко Н.В. Методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы. Сборник методических рекомендаций по защите растений. СПб.: ВИЗР, 1998: 105–126.
5. Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticina* Erikss. Phytopathology, 1926; 16: 89–120.
6. Long D.L., Kolmer J.A. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Phytopathology, 1989; 79: 525–529.
7. Kosman E., Dinooor A., Herrmann A., Schachtel G.A. Virulence Analysis Tool (VAT) User Manual, 2008. Режим доступа: <http://www.tau.ac.il/lifesci/departments/plants/memrs/kosman/VAT.html>

ПРИЧИНЫ ЗАРАЖЕНИЯ ЗЕРНОВЫХ ТОКСИНООБРАЗУЮЩИМИ МИКРОМИЦЕТАМИ И ЗАГРЯЗНЕНИЯ ИХ МИКОТОКСИНАМИ

Солдатенко Н.А., Дробин Ю.Д., Коваленко А.В., Бокун Е.А.
Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Новочеркасск

В ФГБНУ СКЗНИВИ уже более 16 лет ведутся исследования кормов на содержание микотоксинов. За эти годы исследовано 2680 проб различных кормов из 26 районов Ростовской и Воронежской областей, Краснодарского и Ставропольского краев, а также из других регионов Юга России. Установлено, что 43–48% проб содержали микотоксины в количествах, превышающих минимально допустимый уровень (МДУ), 32% были загрязнены двумя и более токсинами. Выявлено, что зернофураж загрязнен преимущественно фузариотоксинами в количестве, превышающем МДУ (Т-2 токсин в 21% исследованных проб). Готовые полнорационные корма содержат в большем количестве аспергиллотоксины афлатоксин В1 (АфВ1) — 7,5%. Например, 40% комбикормов для свиноматок содержат охратоксин А1 в количествах выше 20 мкг/кг.

При хранении загрязнение цельного зерна и зерновых кормов происходит при их хранении при относительной влажности свыше 12%, а также в складах не очищенных и без соответствующей санитарной обработки.

Заражение зерновых токсинообразующими микромицетами в период вегетации происходит при:

- посева на полях, зараженных микромицетами при нулевой обработке или без оборота пласта,
- поражение токсинообразующими микромицетами посевного материала,
- неэффективной предпосевной обработке зерновых фунгицидами.

Заражение посевных площадей зерновых культур в разных регионах Юга России в основном наблюдалось микромицетами родов: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Mucor*.

При исследовании стеблей и зерна колоса ячменя и пшеницы, взятых на полях Славянского, Брюховецкого и Каневского районов Краснодарского края, Аксайского, Песчанокопского и Зерноградского районов Ростовской области, установлено, что загрязнены продуктами жизнедеятельности токсинообразующих микромицетов (микотоксинами) зерновые культуры, где предпосевная обработка почвы проводилась без за-

делки пожнивных остатков (нулевая и безотвальная). Так, загрязнение Т-2 токсином выше в десятки раз и превышает МДУ в 2–3 раза.

Исследования посевного материала обработанного фунгицидами показали, что обработка не дает надежной защиты посевов от заражения токсинообразующими микромицетами так как при прорастании зерновок микромицеты, находящиеся под оболочкой, поражают ростки а затем и растения.

Использованы образцы посевного материала кукурузы, пшеницы, подсолнуха, рапса взятых из хозяйств и обработанных коммерческими фунгицидами. Образцы были разделены на 5 проб каждый и исследованы на наличие микромицетов после из прорастания. Для этого использовали питательные среды: сусло агар, агары Чапека и Сабуро, которые было разлиты на чашки Петри в стерильном боксе, и используя стерильные пинцеты на агар были размещены пробы посевного материала. Каждую пробу исследовали 5-кратно. Чашки с пробами посевного материала помещали в термостаты при t°18–20°С. Создавали влажность воздуха до 80% и поддерживали ее в средах культивированной пробы до прорастания семян и развития первых листиков (табл. 2).

Посевной материал (рапс) обработанный Тиаметоксам 350 г/л наиболее эффективен, как фунгицид на ростках роста микромицетов нет.

Концентрация фунгицида Тиаметоксам — 350 г/л которых были обработаны семена рапса (проба 4) по сравнению с концентрацией в пробах (1, 2 и 3) выше в 9, 3 и 12 раз соответственно. Применение фунгицидов в высоких концентрациях на безопасно. Профилактика заражения посевного материала должна строиться на получении чистого посевного материала с учетом всех неблагоприятных факторов изложенных выше.

Для получения безопасных зерновых и продуктов их переработки необходимо разработать региональные программы производства, как чистого посевного материала, так технологии выращивания и хранения зерновых и строго их выполнять.

Таблица 1 — Загрязнение микотоксинами зерна и соломы в зависимости от предпосевной обработки почвы

№ п/п	Исследованные пробы	Концентрация микотоксинов, мкг/кг					
		Т-2	Аф В1	Стеригмато токсин	ОА 1	Фум В1	Зеараленон
Нулевая технология							
1	Зерно (n=20)	183,2	0	0	7,6	0	0
2	Солома (n=35)	228	2,08	18,9	70,4	376,2	4
Безотвальная							
3	Зерно (n=10)	338	0	0	0	0	0
4	Солома (n=20)	340	2,6	32,2	32	2600	10
Вспашка с оборотом пласта							
5	Зерно (n=30)	41,6	0	27,27	6,6	0	0
6	Солома (n=30)	0	0	6,6	0	0	0

Таблица 2 — Наличие микромицетов в образцах посевного материала после обработки фунгицидами

№ п/п	Посевной материал	Фунгициды	Доза	Рост культур
1	Кукуруза	Доспех-3Тиабендазол, тебуконазол — имазалил / 66x60x0 г/л	40 г.л.	Aspergillus Fusarium
2	Пшеница	Раназол ультра, тебуканазол / 120 г/л	120г.л	Fusarium Mucor
3	Подсолнечник	Тир Тебуканазол — 25 г/л Тирам (ТМТД) — 400 г/л	25 г.л	Aspergillus niger Mucor
4	Рапс	Протравитель: Круйзер Рапс, КС Тиаметоксам — 350 г/л	350г.л.	Нет роста

СОПРЯЖЕННОСТЬ МИКОБИОТЫ МИНИРУЮЩИХ ФИТОФАГОВ И ФИТОПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТЫ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Стогниенко Е.С.^{1,2}, Стогниенко О.И.¹, Мелькумова Е.А.²

«Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы
и сахара им. А.Л. Мазлумова», Рамонь

«Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I»

В последние годы у полевых культур стали прогрессировать сопряженные болезни (болезни, вредоносность которых усиливается внешними факторами). Согласно теории сопряженности патологических процессов [1], некоторые инфекционные болезни растений являются следствием воздействия абиотических и биотических факторов. Повреждения насекомыми один из факторов, усиливающих проявление отдельных болезней. Помимо непосредственного вреда, фитофаги являются агентами заноса в ткани растений фитопатогенной микробиоты, которая в обычных условиях самостоятельно не способна инфицировать растения. Ослабленные в результате повреждений вредителями, растения более восприимчивы к слабопатогенным факультативным патогенам. Такая взаимосвязь выявлена нами [2, 3, 4] между повреждением свекловичным долгоносиком-стеблеядом (*Lixus subtilis*) и развитием увядания сахарной свеклы, между повреждением гусеницами хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*) и развитием фузариоза (*Fusarium moniliforme*) початков и зерна кукурузы.

В исследованиях 2019 г. отборы проб сахарной свеклы, пораженной свекловичным долгоносиком-стеблеядом, провели в Воронежской, Тамбовской, Белгородской области. Пробы растений, пораженных свекловичной минирующей молью, отобраны в сентябре в Воронежской области.

Установлено, что наблюдается сходство популяций в ценозе «гусеница свекловичной минирующей моли — поврежденные ткани черешки и корнеплода» по видам *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *Alternaria alternata*. В ценозе «личинка долгоносика стеблеяда — поврежденные ткани черешка» по видам *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Mucor sp.*, *Rhizopus stolonifer* (табл. 1).

При откладке яиц, самка свекловичного долгоносика-стеблеяда вносит в ткани черешка листа сахарной

свеклы фитопатогенные грибы и бактерии. Грибы вызывают мумификацию черешков, бактерии заселяют сосуды растения, вызывая при благоприятных для заражения погодных условиях некроз сосудистых пучков и бактериальную гниль в хвостовой части корнеплода.

Инфицирование корнеплода факультативными фитопатогенными грибами происходит вторично через корневые волоски, расположенные на ортистике и хвостике. Гусеница свекловичной минирующей моли повреждает основание черешка и заносит с многочисленными экскрементами в раны фитопатогенную микробиоту, которая впоследствии вызывает гниль тканей черешка и головки корнеплодов.

Анализ возбудителей гнилей корнеплодов выявил доминирующие виды: *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum* *F. orthoceras* *F. solani*

Таким образом, сходство популяций микробиоты фитофагов и фитопатогенной микробиоты сахарной свеклы свидетельствует о сопряженном характере развития болезней, обусловленных повреждением вредителями и заносом ими в ткани растения фитопатогенов.

Список литературы

1. Дунин М.С. Иммуногенез и его практическое использование. — Рига: Латгосиздат, 1946. — 144 с.
2. Стогниенко О.И. Микробиота свекловичного долгоносика-стеблеяда — внутрестеблевого вредителя сахарной свеклы // О.И. Стогниенко, Е.С. Стогниенко/ Материалы третьего съезда по защите растений «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем» в 3 томах. Санкт-Петербург. — 16–20 октября 2013 г. — Т. 1. — С. 277–279.
3. Стогниенко О.И. Роль абиотических и биотических факторов в патологическом процессе и формировании комплекса возбудителей увяданий сахарной свеклы / О.И. Стогниенко, А.И. Воронцова, Е.С.

Таблица 1 — Частота встречаемости (%) микобиоты фитофагов и фитопатогенной микобиоты сахарной свеклы, 2019 г.

Ценоз	Локализация	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Nigrospora</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Mucor sp.</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Бактерии
Свекловичная минирующая моль	Гусеницы	33	33	66		33	100			100
	Черешки	42,8	57,1	28,5	28,5	14,2	85,7		28,5	100
	Корнеплод	28,5	85,7	57,1		100	28,5		28,6	100
Свекловичный долгоносик-стеблеед	Черешок		75	25		50	25	25	25	100
	Личинка		50	75		0	75	25	25	100

Таблица — Частота встречаемости (%) возбудителей гнилей корнеплодов сахарной свеклы в ЦЧР, 2019 г.

Регион отбора проб	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium orthoceras</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Aphanomyces sp.</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Mucor sp.</i>
Белгород, Курск	70	30	100	40	20	40	10		
Воронеж		66	100	66		33		33	33

Стогниенко // Защита и карантин растений. — 2017, №4, С. 42–44.

4. Стогниенко Е.С., Сопряженные болезни сахарной свеклы и других сельскохозяйственных культур / Е.С. Стогниенко, Е. А. Мелькумова, О.И. Стогни-

енко // Инновационные решения молодых ученых в аграрной науке: материалы Всероссийской научно-практической конференции (Россия, Воронеж, 26 декабря 2018 г.) — Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ. — 2019 г. С. 233–237.

РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ РОДА *COLLETOTRICHUM* НА ПЛОДОВО-ЯГОДНЫХ КУЛЬТУРАХ

Цветкова Ю.В.^{1,2}, Чудинова Е.М.¹, Еланский С.Н.¹

¹ Российский университет дружбы народов, Аграрно-технологический институт, Москва

² Всероссийский центр карантина растений «ВНИИК» р.п. Быково

Аскомицеты семейства *Glomerellaceae* являются широко распространенными патогенами сельскохозяйственных и диких культур, вызывающими антракноз. В то же время многие виды рода *Colletotrichum* являются некротрофами, гемибитрофами, факультативными патогенами, эндофитам и сапротрофами [1]. Антракнозное повреждение может захватывать все части растения. На плодово-ягодных культурах проявление болезни сопровождается появлением различных некрозов, пятен, язв на стеблях, вдавленных округлых следов на плодах, поражению рожков земляники, преждевременному усыханию и отмиранию вегетативных и генеративных частей растений. Вредоносность патогена усугубляется развитием поражения плодов при хранении. Особенно опасным являются грибы, поражающие растения земляники, в связи с чем Европейская и Средиземноморская организация по карантину и защите

растений внесла данный фитопатоген в карантинный перечень. Однако, с 2011 года данный вид исключен из общего списка из-за широко распространения на территории Европы [2]. В России вид имеет фитосанитарное карантинное значение и является ограниченно распространенным карантинным объектом на территории Евразийского экономического союза [3].

В связи с тем, что на территорию РФ регулярно ввозятся большие объемы посадочного материал импортного происхождения (на 2018 год импорт саженцев садовых культур составил 19,8 млн. шт. [4]), существует необходимость более детального изучения данного объекта, его приуроченности к определенным растениям-хозяевам, исследование внутривидового разнообразия.

Для выделения фитопатогенных грибов были использованы классические биологические методы. Как

пораженные, так и бессимптомные части растений закладывались во влажную камеру и на питательную среду [5]. При проявлении типичного спороношения гриб микроскопировали, при подтверждении признаков, отсеивали в чистую культуру. В ходе работы использовали среду КГА (2% картофельно-глюкозный агар). Изоляты были выделены из плодов, веточек, листьев различных растений.

Выделение ДНК чистых культур проводили с использованием готового набора «М-Сорб-Туб» (ЗАО «Синтол», Москва), основанного на выделении ДНК на магнитных частицах. Для постановки классической ПЦР готовили реакцию смесь. Одна реакция объемом 25 мкл содержала 5 мкл 5X ПЦР буфера Mas DDMix 2025 (ООО «Диалат Лтд», Москва), 1 мМ каждого праймера, 2 мМ раствора целевой ДНК и стерильную воду.

Условия амплификации на приборе составили: 3 мин — 94 °C; 30 циклов: 30 с — 94 °C, 30 с — 52 °C для ITS5/ITS4 и 69 °C для GDF/GDR, 90 с — 72 °C; 1 цикл 7 мин — 72 °C. ПЦР проводили при помощи амплификатора «T100 Thermal Cycler, Bio-Rad». После амплификации 4 мкл ПЦР-продукта разделяли с помощью электрофореза, визуализацию проводили с использованием гель-документирующей системы. После электрофореза продукты очищали набором ThermoFisher. В дальнейшем образцы передавали на секвенирование в компанию «ЕВРОГЕН».

По результатам сравнения сиквенсов нуклеотидных последовательностей участков ITS1–5,8S–ITS2 с базой данных NCBI [6] были получены следующие результаты: все изоляты, выделенные из растений земляники относились к *C. nymphaeae*; растения боярышника поражает два вида *C. salicis* и *C. fiorinae* причем последний также считается энтомопатогенным грибом [7]. Также *C. fiorinae* поражает персик, грушу, малину, клюкву и виноград. Штаммы *C. fiorinae*, выделенные из винограда отличались от штаммов, выделенных из других растений как при анализе последовательностей участков ITS1–5,8S–ITS2, так и при анализе культуральных свойств. Грушу, как и яблоню поражает вид *C. godetiae*. Все эти виды относятся к комплексу *Colletotrichum acutatum species complex* [8].

В комплексе *C. gloeosporioides* [9] отчетливо выделяется вид, поражающий банан — *C. musae*. Штаммы, выделенные из яблони, малины, абрикоса наиболее близки к виду *C. allienum*. Также малину из данного комплекса поражает другой вид. Однако по данным секвенирования участка ITS1–5,8S–ITS2 не удалось точно установить видовую принадлежность. Это связано с тем, что в базе данных при одинаковых показателях идентичности можно обнаружить несколько видов (при анализе и сравнении нуклеотидных последовательностей предпочтения отдавалось данным базы CBS, при отсутствии того или иного вида поиск проводился по индексированным журналам), а по мор-

фологическим и культуральным характеристикам вид определить не удалось.

Данная проблема относится и другим штаммам. В большинстве случаев депонированные и определенные как *C. acutatum* штаммы показывали перекрестное определение как *C. fiorinae* в базе CBS.

Анализ нуклеотидных последовательностей гена глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH) позволил разделить штаммы, выделенные из растений земляники по регионам происхождения. Таким образом, растения из Голландии, Польши, Сербии и России образовали одну группу, а растения из Италии и России — другую. Можно предположить, откуда именно был поставлен тот или иной посадочный материал в Россию. Интересно отметить, что при культурально-морфологическом исследовании данные изоляты также различаются.

При построении филогенетического дерева по двум последовательностям было выявлено, что *C. acutatum sensu stricto* более близок к *C. nymphaeae*; изоляты *C. Godetiae* и *C. salicis* близки между собой, а из группы *C. gloeosporioides* малину поражает *C. theobromicola*.

Список литературы:

1. Silva, D.D., Crous, P.W., Ades, P.K., Hyde, K.D., & Taylor, P.W. (2017). Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. *Fungal Biology Reviews*. 31. 10.1016
2. Электронный ресурс — <https://www.eppo.int/index> <https://www.eppo.int/index> (дата обращения 12.02.2020)
3. Электронный ресурс — <https://vniikr.ru/https://vniikr.ru/> (д.о (дата обращения 12.02.2020)
4. Федоренко В. Ф., Мишуров Н. П., Кондратьева О. В., Федоров А. Д., Слинко О. В. Анализ состояния и перспективные направления развития питомниководства и садоводства: науч. аналит. обзор. — М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. — 88 с.
5. Петина В. В., Скрипка О. В. и др. Методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя антракноза земляники *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, M.: 2013.
6. Электронный ресурс — <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения 12.02.2020)
7. Marcelino JA, Gouli S, Parker BL, Skinner M, Giordano R. Entomopathogenic activity of a variety of the fungus, *Colletotrichum acutatum*, recovered from the elongate hemlock scale, *Fiorinia externa*. *J Insect Sci.* 2009;9:13. doi:10.1673/031.009.1301
8. Damm U., Cannon P.F., Woudenberg J.H.C., Crous P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* 73: 37–113. 2012; doi:10.3114/sim0010.
9. Weir B.S., Johnston P.R., Damm U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73: 115–180. 2012; doi:10.3114/sim0011.

ПРОЯВЛЕНИЕ АГРЕССИВНОСТИ *ALTERNARIA ALTERNATA* НА ЛИСТЬЯХ ПЕЛАРГОНИИ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Васильченко В.В.

Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева

Факультативный паразит *Alternaria alternata* — опасный патоген, вызывающий альтернариоз картофеля. В годы эпифитотий потери урожая картофеля могут достигать 40% [1,2]. Против возбудителя этой болезни необходимо подбирать эффективные способы защиты. Для этого необходимо знать видоизменения и биологические особенности возбудителя [3,4]. Данные изменения можно оценить только в контролируемых лабораторных условиях при выделении изолятов и штаммов фитопатогена.

Основным показателем, который позволяет фитопатогену активно проникать в ткани растения и увеличивать вредоносность болезни, является агрессивность патогена [5]. Эффективность заражения зависит от количества и качества инфекционного начала, которое позволяет преодолевать иммунную систему культурного растения, а также от того насколько условия внешней среды влияют на повышение агрессивности фитопатогена, способствуют проникновению в ткани растения и уменьшают устойчивость растительного организма. Также очень важно совершенствовать тест-системы определения агрессивности патогенов в лабораторных условиях, не упуская значение отдельных компонентов. В этом плане растения из семейства гераниевые подходят оптимально. Целью нашего исследования являлось провести комплексные лабораторные исследования, направленные на изучение агрессивных свойств *Alternaria alternata*.

Материалы и методы

Исследования проводились на кафедре Защиты растений РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. Для оценки агрессивности несовершенного гриба *Alternaria alternata* был выбран тест-объект Пеларгония щитовидная.

Пеларгония щитовидная (пеларгония плющелистная) (*Pelargonium peltatum* (L.) L'Her.) Относится к семейству Гераниевые (Geraniaceae). Родиной Пеларгонии является Южная Африка.

В опыте листья пеларгонии помещали во влажную камеру, так чтобы инокулирование производить на верхнюю или нижнюю часть листа. Половину вариантов повреждали стерильной препаровальной иглой, а половину оставляли без повреждения. Инокуляцию производили смывом суспензии конидий *Alternaria alternata*, при максимальной концентрации 25 000 конидий/мл воды. Дальнейшее разведение производили до 1/2 – 1/4 – 1/8 – 1/16 концентраций конидий. Так же присутствовал вариант с заражением инфекционно-мицелиальным блоком.

Инокулирование производили в течение 12 суток. За этот период определяли следующие компоненты агрессивности: частота инфекции, размер некроза, интенсивность спороношения, инкубационный период, латентный период.

Далее определяли Итоговый индекс агрессивности (ИИА). Шкала включала в себя следующие компоненты агрессивности:

- Частота инфекции (ЧИ). Определяли в баллах: 1 — заражение отсутствует; 2–1 сегмент листа за-

ражен; 3–2 сегмента листа заражено; 4–3 сегмента листа заражено; 5–4 сегмента листа заражено.

- Размер хлороза (РХ). Определяли в баллах: 1 — хлороз отсутствует; 2 — хлороз до 10% поверхности листовой пластины; 3 — от 10 до 25% поверхности листовой пластины покрыто хлорозом; 4 — от 25 до 50% поверхности листовой пластины покрыто хлорозом; 5 — от 50 до 80% поверхности листовой пластины покрыто хлорозом; 6 — от 80 до 100% поверхности покрыто листовой пластины хлорозом.
- Размер некроза (РН). Определяли в баллах: 1 — некроз отсутствует; 2 — до 10% листовой пластины некротизировано; 3 — от 11 до 30% листовой пластины некротизировано; 4 — от 31 до 60% листовой пластины некротизировано; 5 — от 61 до 90% листовой пластины некротизировано; 6 — от 91 до 100% листовой пластины некротизировано.
- Интенсивность спороношения (ИС): 1 — спороношения нет; 2 — до 10% листовой пластины покрыто спороношением; 3 — от 10,1 до 30% листовой пластины покрыто спороношением; 4 — от 30,1 до 60% листовой пластины покрыто спороношением; 5 — от 60,1 до 90% листовой пластины покрыто спороношением; 6 — более 90% листовой пластины покрыто спороношением.
- Инкубационный период 1 (ИП-1). Определяется, как период в сутках до появления первых признаков хлороза.
- Инкубационный период 2 (ИП-2). Определяется, как период в сутках до появления некроза. Отслеживали на протяжении инокуляции.
- Латентный период или период споруляции (ЛП). Определяется, как период в сутках до появления спороношения. Отслеживается на протяжении инокуляции.

Далее полученные данные усредняли по вариантам и подсчитывали итоговый индекс агрессивности (ИИА):

$$\text{ИИА} = (\text{ЧИ} \times \text{Х(РА)} \times \text{РН} \times \text{ИС}) / (\text{ИП-1} \times \text{ИП-2} \times \text{ЛП})$$

Всего 24 варианта опыта в четырехкратной повторности. В опыте изучали 3 фактора — повреждение листа, концентрация инокулята и часть листовой пластины. Основным фактором, который существенно влияет на проявление агрессивных свойств патогена — наличие повреждения листовой пластины (фактор А). Фактор В- различные варианты концентрации патогена и фактором С — инокуляция различной части листовой пластины (верх или низ листовой пластины). Статистический анализ производили, как трехфакторный дисперсионный анализ.

Результаты и их обсуждение

Максимальный ИИА присутствовал в варианте с максимальным заражением верхней части листа и повреждением листовой пластины (Табл. 1). Опираясь на статистический анализ, достоверными различиями являлись варианты с максимальным заражением и нали-

Рис. 1. Лист пеларгонии при инокуляции конидиями *Alternaria alternata* (вариант с максимальной концентрацией при повреждении верхней части листовой пластины)



Рис. 2. Лист пеларгонии при инокуляции конидиями *Alternaria alternata* (вариант с максимальной концентрацией конидий при повреждении нижней части листовой пластины)



Рис. 3. Лист пеларгонии при инокуляции конидиями *Alternaria alternata* (вариант с инокулированием инфекционно-мицелиальным блоком нижней части листовой пластины)



Таблица 1 — Значения итогового индекса агрессивности при инокуляции листьев пеларгонии конидиями *Alternaria alternata*

	1 макс	1/2	1/4	1/8	1/16	Инфекционно-мицелиальный блок	
Верхняя часть листовой пластины	1,01	0,91	0,22	0,11	0,1	0,02	Повреждение ткани листовой пластины
	0,065	0,0004	0,01	0,0002	0,0002	0,002	Без повреждения ткани листовой пластины
Нижняя часть листовой пластины	0,95	0,06	0,11	0,002	0,001	0,02	Повреждение ткани листовой пластины
	0,33	0,03	0,0009	0,14	0,001	0,003	Без повреждения ткани листовой пластины

Таблица 2 — Статистический анализ значений ИИА при инокуляции листьев пеларгонии конидиями *Alternaria alternata*

Фактор А (повреждение)					
A ₁ (имеется) — 0,34			A ₂ (отсутствует) — 0,04		
Фактор В (концентрация)					
B ₁ (1макс)	B ₂ (1/2)	B ₃ (1/4)	B ₄ (1/8)	B ₅ (1/16)	B ₆ (инфекционно-мицелиальный блок)
0,59	0,25	0,08	0,1	0,09	0,01
Фактор С (часть листа)					
C ₁ (верх листа) — 0,22			C ₂ (низ листа) — 0,15		
НСР ₀₅		Ффак	F ₀₅	Различия	
По фактору А — 0,2		55,93	3,98	Существенные	
По фактору В — 0,11		18,17	2,35	Существенные	
По фактору С — 0,2		2,81	3,98	Несущественные	
По взаимодействию — АС		8,27	2,35	Существенные	
По взаимодействию — ВС		3,2	3,8	Существенные	
По взаимодействию — АВ		7,82	2,35	Существенные	

нием повреждением (табл. 2). Это позволяет подтвердить, что наличие высокой концентрации инокулюма и даже незначительного повреждения растений в ходе проведения различных сельскохозяйственных работ при уходе и профилактических мероприятий может существенно повлиять на способность патогена внедриться и распространиться вглубь листовой пластины и повлиять на усиление агрессивности патогена (рис. 1). В нашем исследовании было отмечено, что патогену

не важно, через верхнюю или нижнюю часть листа заражать растение.

Второй по уровню агрессивности был получен у варианта с инокуляцией нижней части при повреждении листа при максимальной концентрации конидиями (рРис. 2). Наименьший уровень агрессивности был зафиксирован в варианте с минимальной концентрацией конидий в варианте без повреждения листовой пластины. Было отмечено, что в максимальных концентраци-

ях агрессивность патогена была выше — это прослеживалось, при всех вариантах заражения.

Так как два максимально высоких значения были зафиксированы в вариантах с инокулированием, можно утверждать, что фактор, отвечающий за инокуляцию верхней или нижней части листа не является существенным (рис. 3).

Оценивая данные дисперсионного анализа, фактор наличия или отсутствия повреждения листовой пластины и концентрация инокулюма патогена имеют статистически верное обоснование. При этом следует отметить, что при низкой концентрации инокулюма во всех вариантах, где присутствовало заражение верхней части листовой пластины, отмечалось снижение проявления агрессивных свойств патогена даже в вариантах, где присутствовало повреждение части листа.

При этом следует отметить, что взаимодействие каждого фактора, а также всех трех факторов приводило к существенным отличиям в вариантах опыта.

Заключение

Опираясь на биологию возбудителя можно сказать, что наличие повреждения листовой пластины позволяет патогену быстрее проникать в ткани растения-хозяина, а также влияет на увеличение его агрессивных свойств. Патогену не приходится в большей степени выделять микотоксины и вивотоксины для преодоления защитных механизмов растения. Вторым решающим фактором в проявлении

агрессивных свойств является количество инокулюма патогена. Установлено, что при максимальных концентрациях *Alternaria alternata* быстрее проникает в ткани растения.

Список литературы

1. Антоненко В.В., Смирнов А.Н. Влияние регуляторов роста растений новосил, лариксин и терпенол на агрессивность *Phytophthora infestans*// Известия ТСХА. 2011.№.4 С. 64–72
2. Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. — Спб.: ВИЗР, 2011. — 71 с.
3. Смирнов А.Н. Оценка стратегий размножения и поддержания жизнеспособности оомицета *Phytophthora infestans* в связи с современными методами защиты картофеля и томата от фитофтороза: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. — Москва. — 2010. — 44 с.
4. Филиппов А.В., Кузнецова М.А., Рогожин А.Н., Сметанина Т.И., Спиглазова С.Ю. Системы принятия решений о защите картофеля от фитофтороза // Защита и карантин растений. 2007. № 3. С. 54–58
5. Issiakhem F., Bouznad Z. In vitro evaluation of difenconazole and chlorothalonil on conidial germination and mycelial growth of *Alternaria alternata* and *A. solani* causal agent of early blight in Algeria PPO — Special Report, no14. –2010. -P. 297–303.

ПАТОГЕННЫЕ И ФИТОТОКСИЧНЫЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ *BIPOLARIS SOROKINIANA* (SACC.) ШНОЕМ — ВОЗБУДИТЕЛЯ ГЕЛЬМИНТОСПОРИОЗНОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ФГБНУ ВНИИФ

Жемчужина Н.С.¹, Киселева М.И.¹, Елизарова С.А.¹, Лапина В.В.²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы

²Аграрный институт Мордовского Государственного университета им. Н.П. Огарева, Саранск

Корневая гниль — болезнь, вызываемая грибом *Bipolaris sorokiniana*, широко распространена на территории возделывания зерновых культур в России. В отдельные годы корневая гниль бывает причиной массовой гибели всходов посевов, а потери зерна оцениваются более чем в 30%. [1, 2].

Основным источником массового воспроизводства гриба на растениях яровой пшеницы являются влагилица и листовые пластинки прикорневых листьев [3]. Низкая агротехника, несоблюдение севооборотов, наличие монокультуры того или другого вида хлебных злаков способствуют накоплению в почве патогенного гриба [4].

По характеру взаимоотношений с растениями *B. sorokiniana* относится к факультативным паразитам. При этом гриб преимущественно является сапротрофом, но в диапазоне определенных условий адаптирован к паразитированию на широком круге зерновых культур и диких злаков.

Патогенность возбудителя корневой гнили, способствующая инфекционному процессу на зерновых культурах, во многом зависит от метаболической активно-

сти гриба, или его фитотоксичности. Токсины ведут к нарушению обмена веществ растения и замедлению физиологических процессов, понижению сопротивляемости болезни, усилению патологического процесса [5]. Продуцируемые патогеном токсины являются основным фактором развития болезни растений. В процессе паразитирования на растениях возбудитель корневой гнили вырабатывает гидролитические ферменты и токсины, вызывая образование таких метаболитов, как гельминтоспорол, гельминтоспорал, виктоксин, цитокинин [6, 7].

Ряд авторов указывают, что концентрация токсинов меняется в зависимости от внешних и внутренних факторов среды [5, 7]. Высокая фитотоксичность *B. sorokiniana* во время интенсивного роста мицелия обуславливает его патогенность для всходов [8].

Целью исследований являлось определение специфических патогенных и фитотоксичных свойств коллекционных штаммов *B. sorokiniana* из различных агроклиматических районов возделывания зерновых в России.

Таблица 1. Список коллекционных штаммов *B. sorokiniana* с пораженных образцов пшеницы, ячменя и овса, собранных в различных районах возделывания зерновых культур в России в 2012–2016 гг.

Шифр штамма гриба	Число штаммов	Культура, из которой выделен штамм	Происхождение (год, регион, область)
ОА 1/1–24, ОО 3/1–45, С- 7з–242, ОА 1/1–16, ОО 3/1–112, ОО 4/3–154	6	Пшеница	2014, Уральский, Оренбургская
МРЛ–16–9–1	1	Овес	2016, Волго-Вятский, Мордовия
Вл–14–13, ЦВ–3–14	2	Ячмень	2014, Центральный, Владимирская
Тул–12–1–6, Тул–12–1к–1, Тул–12–1–2, Тул–12–1–3, Тул–12–1–4	5	Ячмень	2012, Центральный, Тульская
МР–14–1, МРД–16–18–1, МРК–16–13–1, МРИ–16–6, МРК–16–3–2, МРЕ–16–5	6	Ячмень	2014, Волго-Вятский, Мордовия
Всего:	20		

Таблица 2. Патогенность споровых суспензий и фитотоксичность культуральных жидкостей штаммов *B. sorokiniana* на всходах сорта пшеницы Мироновская 808 (в% к контролю)

Шифр штамма	Вид растения-хозяина	Патогенность (споровая суспензия)				Токсичность (культуральная жидкость)			
		Всхожесть семян,%	Длина ростка,%	Длина корней,%	Степень влияния	Всхожесть семян,%	Длина ростка,%	Длина корней,%	Степень влияния
ОА 1/1–24	пшеница	100,0	93,6±4,7	98,2±5,2	НП	100,0	46,0±2,4	28,9±1,3	Т
ОО 3/1–45	пшеница	100,0	97,7±4,1	74,4±2,6	НП	100,0	64,8±3,7	26,5±1,9	Т
С- 7з–242	пшеница	100,0	55,1±4,4	55,5±4,9	СП	96,7	13,6±2,6	6,7±1,4	Т
ОА 1/1–16	пшеница	100,0	51,5±4,4	52,4±4,6	СП	100,0	34,5±4,4	21,3±1,8	Т
ОО 3/1–112	пшеница	100,0	65,6±4,7	75,2±4,8	НП	100,0	19,4±2,5	11,1±1,8	Т
ОО 4/3–154	пшеница	100,0	66,7±4,7	63,1±6,1	СП	96,7	22,9±3,1	12,3±1,9	Т
МРЛ–16–9–1	овес	83,3	40,1±5,8	76,7±9,6	НП	65,4	23,8±4,6	17,8±2,8	Т
Вл–14–13	ячмень	80,0	36,7±4,4	25,5±3,0	П	100,0	34,8±3,7	38,3±3,0	УТ
ЦВ–3–14	ячмень	70,0	23,3±3,3	18,7±3,5	П	96,7	12,3±1,4	5,5±0,9	Т
Тул–12–1–6	ячмень	96,7	41,6±5,3	34,6±5,6	УП	96,7	26,5±3,2	17,1±1,8	Т
Тул–12–1к–1	ячмень	86,7	51,8±4,9	33,3±3,3	УП	90,0	18,6±3,1	9,5±1,9	Т
Тул–12–1–2	ячмень	63,4	31,0±3,9	29,3±5,4	П	96,7	23,3±2,9	15,0±1,5	Т
Тул–12–1–3	ячмень	80,0	38,8±4,9	29,9±5,1	П	100,0	21,8±2,3	18,1±1,8	Т
Тул–12–1–4	ячмень	100,0	76,8±4,4	44,1±3,1	УП	100,0	33,8±2,9	18,8±1,7	Т
МР–14–1	ячмень	100,0	99,5±4,4	97,5±3,8	НП	100,0	59,2±3,6	35,1±1,9	УТ
МРД–16–18–1	ячмень	100,0	80,6±6,3	108,1±6,4	НП	88,6	40,7±4,5	25,0±2,3	Т
МРК–16–13–1	ячмень	79,2	53,0±7,2	64,2±7,9	СП	46,2	9,8±2,5	5,5±1,8	Т
МРИ–16–6	ячмень	100,0	68,6±7,5	104,0±8,0	НП	76,9	26,2±3,1	12,0±2,1	Т
МРК–16–3–2	ячмень	100,0	106,1±5,1	125,4±5,7	НП	96,7	47,1±4,5	22,3±1,5	Т
МРЕ–16–5	ячмень	65,0	33,0±9,2	25,3±6,7	П	100,0	17,1±2,2	13,5±1,4	Т

Примечание: НП — непатогенный; СП — слабопатогенный; УП/УТ — умеренно-патогенный/ умеренно-токсичный; П/Т — патогенный/ токсичный

Объектами исследований стали 20 коллекционных штаммов *B. sorokiniana* (табл. 1).

В Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ВНИИФ эти штаммы поддерживаются в жизнеспособном состоянии последовательными пересевами на питательных средах. Кроме этого, они заложены на длительное хранение методами криоконсервации в глицерине и лиофилизации на полосках фильтровальной бумаги.

Для проведения экспериментов коллекционные штаммы грибов рассевали на питательную среду (2% картофельно-глюкозный агар) в чашках Петри и выращивали в течение 14 суток в термостате при температуре 22–24 °С по методике И.А. Дудки [9]. Однородность

колоний штаммов по морфологическим признакам оценивали по 20 моноконидиальным культурам гриба, которые получали методом истощающего штриха. В качестве справочной литературы при установлении видовой принадлежности использовали определители В.И. Билай [10], F.M. Dugan [11].

Патогенные и токсичные свойства штаммов *B. sorokiniana* изучали, используя метод биопробы на семенах [12]. Патогенность споровых суспензий и фитотоксичность фильтратов культуральных жидкостей (ФКЖ) грибов тестировали на семенах пшеницы (с. Мироновская 808). О степени патогенности и токсичности штаммов судили по влиянию суспензий конидий и ФКЖ на всхожесть семян, развитие ростка и первич-

ных корней пшеницы, однако основным показателем считали длину корней. Определение степени патогенности и токсичности проводили на 5 сутки от начала прорастания семян. Если длина проростков и корней (в мм) в опытном варианте составляла 0–30% от длины контроля, то это свидетельствовало о сильной патогенной (П) и о сильной токсичной (Т) активности гриба; 31–50% — умеренной патогенности (УП) и умеренной токсичности (УТ); 51–70% — слабой патогенности (СП) и слабой токсичности (СТ); 71–100% — о непатогенных (НП) и нетоксичных (НТ) свойствах изолятов. Длину проростков и первичных корней семян, пророщенных в воде, считали контролем и принимали за 100%. Статистическую обработку результатов проводили с помощью модифицированной программы, разработанной в Windows 98 на базе Excel.

В результате наблюдений за прорастанием зерен и развитием проростков, обработанных спорowymi суспензиями и ФКЖ, определена патогенность и фитотоксичность 20 штаммов *B. sorokiniana*. Было установлено, что все штаммы в той или иной степени оказывали влияние на всхожесть, развитие проростков, т. е. обладали неодинаковой патогенностью и токсичностью. Одни из них сильно угнетали развитие проростков, другие подобного действия не оказывали (табл. 2).

Обработка семян спорowymi суспензиями и фильтрами культуральной жидкости штаммов *B. sorokiniana* не выявила резкого снижения всхожести семян. Исключение составил штамм МРК-16-13-1, культуральная жидкость которого снизила всхожесть семян до 46,2%. Фильтраты культуральной жидкости всех штаммов *B. sorokiniana* тормозили рост ростка и корней тестируемого сорта пшеницы. Угнетение развития ростка достигало 9,8–59,2%, а корней — 5,5–38,3%. Таким образом, все проверенные штаммы были токсичны. В то же время штаммы *B. sorokiniana* значительно различались по патогенности. Отмечены все градации по степени патогенности. Непатогенными и слабопатогенными оказались 60% штаммов гриба, умеренной и сильной патогенностью обладали 40% штаммов.

Результаты исследований позволили сделать вывод, что все проверенные штаммы *B. sorokiniana* обладали патогенной и токсичной активностью. Основой паразитизма для них является способность осуществлять заражение хозяина, преодолевать его сопротивление и использовать для питания и размножения. Для всех испытанных штаммов гриба — возбудителя гельминтоспориозной корневой гнили характерен широкий круг хозяев. Природные популяции гриба характеризуются наличием в них штаммов, различающихся по па-

тогенности и токсичности, что способствует их выживаемости в различных агроклиматических условиях обитания.

Список литературы

1. Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я., Чулкина В.А. Эпифитотология / Новосибирск, 2011, 707 с.
2. Чулкина В.А., Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я. Интегрированная защита растений: фитосанитарные системы и технологии / М.: Колос. 2009. 670 с.
3. Ашмарина Л.Ф. Особенности жизненного цикла возбудителя корневой гнили *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker. Современная микология в России. 2015. Том 5. С. 11–13.
4. Toropova E.Y., Kirichenko A.A., Stetsov G.Y. et al. Soil Infections of Grain Crops with the Use of The Resource-saving Technologies in Western Siberia, Russia // Biosciences Biotechnology Research Asia, August, 2015. Vol. 12(2). P. 1081–1093.
5. Дурынина Е.П., Великанов Л.Л., Чичева Т.В. Влияние токсинов *Helminthosporium sativum* Sacc. на поглощение растениями ячменя элементов минерального питания из раствора // Микология и фитопатология. 1982. Т. 16(6). С. 529–535.
6. Великанов Л.Л. К вопросу о биологической роли токсических метаболитов *Helminthosporium sorokinianum* Sacc. / В кн.: Микробиологические процессы в почвах и урожайность сельскохозяйственных культур. Вильнюс, 1978. С. 69–71.
7. Pringle R.B. Role of toxins in etiology root disease of wheat // Canad. J. Bot. 1977. Vol. 55 (13). P. 1801–1806.
8. Киселева М.И., Жемчужина Н.С., Коваленко Е.Д. и соавт. Новые поступления в Государственную коллекцию фитопатогенных микроорганизмов Всероссийского ВНИИ фитопатологии. Штаммы *Bipolaris sorokiniana* // Защита и карантин растений. 2014. №1. С. 50–52.
9. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и соавт. Методы экспериментальной микологии / Киев: Наук. Думка. 1982. 552 с.
10. Билай В.И., Курбатская З.А. Определитель токсикообразующих микромицетов. Киев: Наукова думка. 1990. 233 с.
11. Dugan F.M. The identification of fungi. An illustrated introduction with keys, glossary, and guide to literature. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA, 2006. 176 p.
12. Парфенова Т.А., Алексеева Т.П. Токсическое влияние фильтрата культуральной жидкости грибов рода *Fusarium* на семена пшеницы // Микология и фитопатология. 1995. Т. 29 (1). С. 78–82.

Глава 10. Грибковые болезни и защита растений. Фунгициды

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.10

КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ *PLASMOPARA VITICOLA* НА ВИНОГРАДЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ФУНГИЦИДА СИЛАР, ВР

Алейникова Н.В., Диденко П.А.

ФГБУ науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», Ялта

Милдью является основной вредоносной болезнью винограда. На виноградных плантациях в Крыму особое внимание уделяется профилактике и контролю данного заболевания, поскольку в отдельные годы потери от болезни составляют от 33–37% продукции, эпифитотийное развитие патогена может вызвать 100%-ную гибель урожая [2,3,5].

В зависимости от метеорологических условий вегетационных периодов *Plasmopara viticola* Berl. et Toni может развиваться в разные сроки и с различной интенсивностью. Анализ многолетних данных по развитию милдью в почвенно-климатических условиях Юго-западной зоны виноградарства Крыма позволяет установить закономерность проявления эпифитотий: они наблюдаются в годы с большим количеством осадков и оптимальной среднесуточной температурой воздуха в мае-июне — 21–25 °С и периодичностью один раз в 4 года — 2008, 2011, 2015, 2019 гг. Условия для развития милдью в условиях Крыма складываются в основном в июне. Проявление первых визуальных признаков болезни наблюдается во 2–3 декадах июня и 1 декаде июля [1,4].

Цель исследований заключалась в определении биологической эффективности нового малотоксичного фунгицида Силар, ВР при защите винограда от милдью.

Закладка полевых опытов и учеты проводились по общепринятым в виноградарстве и защите растений методикам [6–9]. При исследованиях использовали фитопатологические методы — для изучения видового состава возбудителей болезней винограда, их биологических особенностей развития, распространения и вредоносности; статистические — для определения достоверности полученных экспериментальных данных.

Исследования проводились в 2018–2019 гг. (АО «Агрофирма Черноморец», Бахчисарайский район) по следующей схеме: 1. Контроль (без обработок); 2. Опыт: Силар, ВР (20 мл/1 л воды); 3. Стандарт: Споробактерин, СП (20 г/100 м²). Сроки применения изучаемого фунгицида (шкала ВВСН): первая обработка — «до цветения» (57); вторая обработка — «конец цветения» (69); третья обработка — «ягоды размером с дробину» (73).

В годы проведения исследований метеорологические показатели были благоприятными для роста и развития виноградных растений. Прослеживалась об-

щая тенденция последнего десятилетия — увеличение среднесуточной температуры воздуха в период вегетации винограда на фоне неравномерного распределения осадков.

Оптимальные условия для развития милдью в сезоне вегетации винограда 2018 г. сложились в конце мая. Первое визуальное проявление болезни на листьях контрольного варианта в виде «маслянистых» пятен наблюдали 25 мая, 1 июня отмечали поражение листьев и гроздей с интенсивностью 0,4%. В фенологическую фазу развития виноградного растения «после цветения» (14.06) — на контрольных растениях развитие милдью отмечали на листьях и гроздях с интенсивностью 9,5 и 0,44% соответственно. При проведении учета развития болезни в период «ягоды величиной с горошину» установлено, что данный показатель увеличился до 14% по листьям и 0,9% по гроздям.

Условия для первичного заражения в 2019 году милдью сложились в первой декаде июня после выпавших осадков. Первое единичное проявление болезни в виде «маслянистых» пятен на листьях отмечали 18.06. Повышенный температурный режим июня (среднесуточные температуры воздуха достигали 24–27 °С, с абсолютным максимумом в этот период 35,6 °С) способствовал подавлению развития патогена — на контрольном варианте интенсивность развития милдью на листьях 2.07 не превышала 2,5%. В период активного роста ягод, начиная с конца июня (осадки 25–28.06) и в июле, наблюдали интенсивное распространение инфекции. К концу третьей декады июля («начало формирования грозди») листья контрольного варианта были поражены милдью с интенсивностью 60,7%, грозди — 4,7%. Усредненные результаты за годы исследований представлены в табл. 1.

После проведения первой обработки для защиты винограда от милдью препаратами Силар, ВР и Споробактерин, СП на опытных участках развитие патогена не обнаружено (табл. 1). Учет, проведенный через неделю после второй обработки («конец цветения») показал, что на листьях опытных вариантов произошло увеличение интенсивности развития милдью, данный показатель составлял: Силар, ВР — 4,4% и Споробактерин, СП — 4,5% (отклонения в пределах

Таблица 1 — Динамика развития милдью на фоне применения фунгицида Силар, ВР на винограде (сорт Каберне-Совиньон, среднее за 2018–2019 гг.)

Вариант опыта	Фенологическая фаза развития винограда							
	конец цветения		ягоды размером с дробину		ягоды величиной с горошину		начало формирования грозди	
	Развитие милдью, %							
	листья	грозди	листья	грозди	листья	грозди	листья	Грозди
1. Контроль	1,6	0,2	6,3	0,3	14,6	0,5	30,4	2,3
2. Силар, ВР	0	0	1,6	0	4,4	0	9,5	0,5
3. Споробактерин, СП (стандарт)	0	0	1,8	0	4,5	0	10,1	0,7
НСР ₀₅	–	–	1,32	–	2,74	–	4,57	0,25

Таблица 2 — Биологическая эффективность применения фунгицида Силар, ВР на винограде (сорт Каберне-Совиньон, среднее за 2018–2019 гг.)

Вариант опыта	Фенологическая фаза развития винограда							
	конец цветения		ягоды размером с дробину		ягоды величиной с горошину		начало формирования грозди	
	Биологическая эффективность, %							
	Листья	грозди	листья	грозди	листья	грозди	листья	грозди
1. Силар, ВР	100	100	74,6	100	69,9	100	68,8	78,3
2. Споробактерин, СП (стандарт)	100	100	71,4	100	69,2	100	66,8	69,6

ошибки опыта). На гроздях винограда при учетах в фазы «ягоды размером с дробину» и «ягоды величиной с горошину» признаков развития заболевания не выявлено. Через неделю после третьего опрыскивания («начало формирования грозди»), при существенном усилении развития милдью, интенсивность поражения листьев и гроздей опытного варианта увеличилась до 9,5% и 0,5%, аналогичные показатели на стандартном варианте составляли 10,1% и 0,7% соответственно (табл. 1).

При расчете биологической эффективности защиты винограда от милдью в фенологическую фазу развития винограда «начало формирования грозди» (максимальное развитие милдью) данный показатель при использовании препарата Силар, ВР составлял 68,8% по листьям, 78,3% — по гроздям (табл. 2). На стандарте, с применением препарата Споробактерин, СП биологическая эффективность составляла 66,8% по листьям и 69,6% по гроздям. Установлено, что эффективность защиты гроздей винограда от милдью в этот период при использовании изучаемого фунгицида превышала на 8,7% стандартный вариант.

Исследованиями установлено, что на опытных вариантах с трехкратным применением препаратов Силар, ВР и Споробактерин, СП получен кондиционный урожай винограда, показатели, которого находились на одном уровне и составляли — 4,85–4,95 кг/куст. Наименьшее количество собранного урожая отмечено на контроле (4,61 кг/куст). В опыте и стандарте концентрация сахара в соке ягод винограда существенно не отличалась — 266–267 г/дм³. Наименьшая концентрация сахара в соке ягод выявлена в контрольных пробах винограда (250 г/дм³).

Таким образом, в результате проведенных двухлетних исследований по применению фунгицида Силар, ВР в условиях первой половины вегетации винограда

2018–2019 гг. при среднем развитии милдью на листьях и слабом на гроздях установлено:

- биологическая эффективность защиты винограда от милдью на уровне и выше стандарта, которая составляла 68,8% по листьям и 78,3% по гроздям. При этом отмечено, что в опыте, на фоне применения изучаемого фунгицида, эффективность защиты гроздей от заболевания была выше на 8,7%;
- по количественным и качественным показателям урожай на опытном варианте находился на уровне стандарта (Споробактерин, СП) и кондиционными для приготовления красных сухих столовых вин;
- изучаемый фунгицид не оказал отрицательного влияния на вегетативное и генеративное развитие растений, не отмечено его фитотоксического действия на виноград.

Работа выполнена согласно договорам на выполнение НИР с ООО «Ваше хозяйство» №67/18 от 21.05.2018 г. и № 53/19 от 25.03.2019 г.

Список литературы

1. Алейникова Н.В. Милдью винограда — особенности развития в условиях Юго-западного Крыма / Н.В. Алейникова, П.А. Диденко // Современная микология в России: сб. тезисов, г. Москва. — 2017. — Т. 7. — С. 7–9.
2. Алейникова Н.В. Регламентация применения на винограде фунгицида отечественного производства / Н.В. Алейникова, П.А. Диденко, Е.А. Болотанская // Вавиловские чтения — 2019: Сб. ст. междунауч.-практ. конф. — Саратов: Амирит, 2019. — С. 190–191.
3. Алейникова Н.В. Современные тенденции развития вредных организмов в ампелоценозах Крыма

- / Н.В. Алейникова, М.Н. Борисенко, Е.С. Галкина, Я.Э. Радионовская // Плодоводство и виноградарство Юга России. — 2016. — № 42 (06). — С. 119–133.
4. Алейникова Н.В. Современные фунгициды для защиты винограда от милдью / Н.В. Алейникова, П.А. Диденко, В.Н. Шапоренко // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. НИВиВ «Магарач». — Ялта. — 2014. — Т. XLIV. — С. 56–58.
 5. Борисенко М.Н. Фитосанитарное состояние виноградных насаждений Крыма / М.Н. Борисенко, Н.В. Алейникова, Е.С. Галкина, Я.Э. Радионовская // Защита и карантин растений. — 2015. — № 6. — С. 21–26.
 6. Доспехов Б.А. Планирование полевого опыта и статистическая обработка данных / Б.А. Доспехов. — М.: Колос, 1979. — 206 с.
 7. Новожилов К.В. Методические указания по государственным испытаниям фунгицидов, антибиотиков и протравителей семян сельскохозяйственных культур / К.В. Новожилова. — М.: Колос, 1985–89 с.
 8. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / под ред. В. И. Долженко. — С.-Пб., 2009 г. — 378 с.
 9. Методические рекомендации по агротехническим исследованиям в виноградарстве Украины / под ред. А. М. Авидзба. — Ялта: ИВиВ «Магарач», 2004. — 264 с.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ *MACROPHOMINA PHASEOLINA* В КОМПЛЕКСЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ. СКРИНИНГ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЕЕ КОНТРОЛЯ

Аршава Н.В., Баикатова М.Н., Божко К.Н., Желтова Е.В., Каракотов С.Д.
АО «Щелково Агрохим»

В последнее десятилетие в свекловодческих районах РФ получило распространение заболевание, возбудителем которого является *Macrophomina phaseolina* — микромицет, вызывающий корневые гнили у гибридов всех селекционных компаний, представленных на рынке. В 2012 г. эта болезнь обнаружена в Белгородской, Воронежской областях и частично в Орловской области. *M. phaseolina* поражает в основном ослабленные растения в условиях высокой температуры и низкой влажности. Первоначальным признаком этого заболевания является выраженное увядание листовой, которая впоследствии становится коричневой и отмирает. Поверхность поврежденного корня окрашивается в коричнево-черный цвет, внутри появляются очаги желтого или горчичного цвета. На поздних стадиях болезни корневая ткань чернеет, мумифицируется, в ее полостях обнаруживаются массы микросклеротий. Последние сохраняются в почве или ткани хозяина до 15 лет [1,2].

В этом исследовании мы представляем два варианта идентификации *M. phaseolina* в пуле возбудителей корневых гнилей сахарной свеклы. Во-первых, посредством приемов классической фитоэкспертизы: очистка культуры, изучение ее морфологических признаков, культивирование конидиального спороношения и пр. Во-вторых, с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с видоспецифичными олигонуклеотидами, фланкирующими уникальные фрагменты генома *M. phaseolina*.

Но основной задачей исследования является поиск оптимального фунгицидного препарата, ингибирующего рост мицелия *M. phaseolina* in vitro. С этой целью были протестированы несколько препаратов АО «Щелково Агрохим» и три фунгицида других производителей.

Экспериментальная часть работы проводилась на корнеплодах гибрида сахарной свеклы БТС–1965, полученных из Белгородской области. Присланные образцы

отличались друг от друга по степени поражения корнеплодов и листьев. Отбор производился 20–21.08.2019.

Молекулярно-биологические методы диагностики основаны на технологии ПЦР, в которой многократно увеличивается специфическая часть таксономически значимого участка геномной ДНК искомого патогена. Мишенью видоспецифичных праймеров для детекции *M. phaseolina* является консервативная последовательность INS-региона ее ядерной рДНК (MrKF1 (5'-CCG CCA GAG GAC TAT CAA AC-3') и MrKR1 (5'-BKT CCG AAG CGA GTT GTA TT-3')) [2]. Кроме того, на корнеплодах детектированы мелкоспоровые виды *Alternaria spp.*, *Fusarium oxysporum*, *Cercospora beticola*, *Phoma betae* и *M. phaseolina*. На листьях обнаружены *Alternaria spp.*, *C. beticola*, *P. betae* и *M. phaseolina*. Патогенная бактерия *Pseudomonas syringae* обнаружена только на листьях с пятнистостью.

В результате микробиологического анализа фрагментов ткани корнеплодов, проведенного путем стимуляции развития и роста микроорганизмов в зараженных тканях во влажных камерах (ГОСТ 12044–93), был идентифицирован мицелий следующих грибов: *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.* Кроме того, основываясь на морфологии мицелия и микросклеротий, а также на характере роста на КСА, один из штаммов, был предположительно идентифицирован как *M. phaseolina*. После подтверждения в ПЦР этот гриб выделен в чистую культуру и культивирован на твердой среде для анализа фунгистатического или фунгицидного действия препаратов, предназначенных для ингибирования роста его мицелия (таблица 1). Для количественной оценки степени замедления радиального роста колоний использовали уравнение Эббота: $T = [(Dk - Do) / Dk] \times 100\%$, где Dk — диаметр колонии в контроле, Do — диаметр колонии в опыте, T — торможение (в процентах) радиального роста колоний микромицетов при добавлении в питательную среду веществ, подавляющих рост.

Таблица 1. Результаты скрининга фунгицидных препаратов для контроля *M. phaseolina*, возбудителя угольной (пепельной) гнили, сухого склеротиниоза

Фунгицид	Состав препарата, г/л	Норма расхода, л/га	Норма расхода ДВ, г/га	Подавление роста гриба по отношению к контролю, %
Титул Дуо, ККР	Тебуконазол, 200; пропиконазол, 200	0,5	100+100	47,1
Винтаж, МЭ	Дифеноконазол, 65; флутриафол, 25	0,8	52+20	0
Кагатник, ВКР	бензойная кислота, 300	2,0	600	49,4
Азорро, КС	Карбендазим, 300; азоксистробин, 100	1,0	300+100	100
Титул Трио, ККР	Тебуконазол, 160; пропиконазол, 80; ципроконазол, 80	0,6	96+48+48	71,3
Протравитель 1, КЭ	Пропиконазол, 250; ципроконазол, 80	0,75	187,5+60	20,7
Протравитель 2, СЭ	Пиракlostробин, 62,5; эпоксиконазол, 62,5	1,75	109,4+109,4	30,5
Протравитель 3, КЭ	Дифеноконазол, 150; пропиконазол, 150	0,3	45+45	0

Для поиска оптимального фунгицидного препарата с целью контроля возбудителя угольной гнили были отобраны несколько продуктов на основе различных действующих веществ. Наибольший фунгицидный эффект показал двухкомпонентный препарат, содержащий карбендазим с азоксистробином — 100 % подавление роста гриба по отношению к контролю. К аналогичным выводам пришли в 2013 году бразильские ученые, проверявшие *in vitro* чувствительность мицелия *M. phaseolina* к фунгицидам [3].

Хороший результат показывает сочетание в одном препарате тебуконазола, пропиконазола и ципроконазола (подавление роста гриба более 70 %). Без ципроконазола рост подавляется менее, чем на 50 %.

Бензойная кислота, входящая в состав препарата Кагатник, также подавляет гриб почти на 50 %.

Смеси дифеноконазола с флутриафолом и дифеноконазола с пропиконазолом не токсичны для мицелия *M. phaseolina*.

Угольная (пепельная) гниль — сложное для контроля заболевание из-за широкого круга хозяев, распространенного присутствия склеротий в почве и низкой культуры земледелия. Климатические изменения, которые наблюдаются в последние годы, являются благоприятными для развития этого патогена, отдающего предпо-

чтение теплоте и засушливому климату. Кроме того, было зафиксировано наличие как фенотипических, так и генетических изменений в популяции *M. phaseolina*, даже из одного и того же географического региона. Эти проблемы усугубляют сложность разработки эффективных и устойчивых стратегий борьбы с болезнью. Представленное исследование является началом поиска новых эффективных средств для этой работы.

Список литературы

1. Karadimos D.A., Karaoglanidis G., Klonari K. First Report of Charcoal Rot of Sugar Beet Caused by *Macrophomina phaseolina* in Greece. 2002, Plant Disease, V. 86 (9), p. 1051–1051. 10.1094/PDIS.2002.86.9.1051D
2. Kaur S., Dhillon G.S., Brar S.K., Vallad G.E., Chand R., Chauhan V.B. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. Critical Reviews Microbiology. 2012, volume 38(2), pp. 136–151. doi:10.3109/1040841X.2011.640977.
3. Tonin R. F. B., Avozani A., Danelli A. L. D., Reis E. M., Zoldan S. M., Garcés-Fiallos F. R. *In vitro* mycelial sensitivity of *Macrophomina phaseolina* to fungicides. 2013, *Pesquisa Agropecuária Tropical*, V 43 (4), pp. 460–466. doi:10.1590/S1983-40632013000400014

ГРИБНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО В ЛЕСОСТЕПИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Ашмарина Л.Ф.

Сибирский НИИ кормов СФНЦА РАН, Новосибирск

В условиях Западной Сибири клевер луговой поражается целым комплексом болезней грибной этиологии [1]. Многие виды патогенов сохраняются в живых тканях растений или растительных остатках, почве, вызывая вспышки развития болезней и значительно снижая продуктивность данной культуры [2].

Цель исследования — изучение грибных заболеваний в агроценозе клевера лугового. Исследования выполнялись на базе опытных полей Сибирского НИИ

кормов СФНЦА РАН на выщелоченном черноземе северной лесостепи Приобья. В условиях естественного заражения систематически в течение всего вегетационного периода обследовали селекционные и семеноводческие посевы клевера лугового, вели наблюдения и учеты начала развития и распространенности возбудителей, степени поражения растений. Фитопатологический мониторинг проводился в 2003–2019 гг. по общепринятым в фитопатологии методикам. Выделение

микромикетов осуществляли на агаризованных средах с последующей идентификацией видов.

Годы исследований отличались по погодным условиям и охватывали весь спектр климатических условий, характерных для лесостепной зоны Западной Сибири.

В связи с тем, что клевер луговой является многолетней культурой, то развитие и распространение патогенов в агроценозах носит хронический характер. Фитосанитарное состояние посевов зависит, прежде всего, от гидротермических условий, влияющих на растение-хозяина и паразита; от генотипа и адаптивности сорта к условиям внешней среды, а также от агротехнических приемов возделывания и режима хозяйственного использования травостоя [3–4].

В результате проведения многолетнего фитосанитарного мониторинга в посевах клевера лугового в условиях лесостепи Западной Сибири нами установлен целый комплекс заболеваний [5]. Наиболее опасными для клевера являются фузариозное увядание в засушливый раннелетний период и фузариозная корневая гниль в течение всех лет вегетации. Фузариозы являются основной причиной изреживания травостоев клевера. В эпифитотийном 2019 году развитие фузариозного увядания на разных сортах клевера достигало 80–100%, что приводило к значительной гибели растений. Установлено, что причиной сильного проявления болезни наряду с почвенной является и семенная инфекция, наличие видов рода *Fusarium* на семенах представляет значительную угрозу заражения на ранних фазах онтогенеза в первый год и в период отрастания во второй год жизни клевера. При поражении проростков последние погибают до выхода на поверхность почвы, поражение в более поздние сроки приводит к увяданию растений. Идентификация видового состава показала, что преобладающими видами были *F. oxysporum*, Schlecht. Snyd. et Hans, *F. oxysporum* Schlecht. emend. Snyd. et Hans. var. *orthoceras* (App. et Wr.) Bilai, *F. solani* (Mart.) App. et Wr., *F. sambucinum* Fuck, *F. sambucinum* Fuck. var. *minus* Wr., *F. gibbosum* App. et Wr. emend. Bilai, *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. sporotrichiella* Bilai var. *poae* (Peck.) Wr. Bilai.

Среди выделенных из семян грибов присутствовали в меньшем числе представители родов *Pythium*, *Botrytis*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Curvularia*, *Peronospora*, *Stemphylium*, *Ascochyta*, *Trichotecium*, *Corynespora*. Наряду с корневыми патогенами клевер луговой поражается листовостеблевыми инфекциями. К наиболее распространенным болезням, грибной этиологии в регионе относятся: мучнистая роса клевера (*Erysiphe communis* Grev. f. *trifolii*); антракноз клевера (*Kabatiella caulivorum* Karak, (*Gloeosporium caulivorum*); стемфилиоз клевера (*Stemphylium sarcinaeforme* Wiltsh); церкоспороз клевера (*Cercospora zebrina* Pass.); аскохитоз клевера (*Ascochyta trifolii* Bond et Trus.); бурая пятнистость клевера (*Pseudopeziza trifolii* Fuck.); черная пятнистость (*Polythrincium trifolii* Kunze); ржавчина клевера (*Uromyces fallens* (*U. trifolii* (Hedw) Lev.) и др.

Почти ежегодно в регионе посевы клевера страдают от мучнистой росы. (*E. communis*). В засушливые годы заболевание проявляется уже в первой половине июня, сначала на раннеспелых сортах, достигая максимального развития в конце цветения — начале созревания семян. Плодовые тела возбудителя болезни перезимо-

вывают на послеуборочных растительных остатках и на зимующих растениях бобовых трав, которые являются источниками распространения болезни. Исследования, проведенные начиная с 2003 года показали, что индекс развития болезни превышал 50% в 2004, 2006, 2008, 2012 и 2019 годах и колебался от 53,5 до 58,2%, значительно снижая урожай зеленой массы и семян при раннем развитии болезни на 20–30% и ухудшая их качество.

В отдельные годы растения клевера лугового поражаются церкоспорозом (*C. Zebrina*). Болезнь поражает листья и стебли растений в конце первого года жизни. На старовозрастных посевах штриховато-уловатые бурые пятна проявляются в мае. Максимальное развитие болезни наблюдается в период цветения и побурения головок. На позднеспелых (одноукосных) сортах (СибНИИК–10, Родник Сибири и др.) заболевание проявляется позднее, что снижает вредоносность болезни. Раннеспелые сорта (Метеор и др.) сильнее поражаются фитопатогеном, но они обладают относительной толерантностью. Проявление болезни может колебаться по годам, так наиболее сильное развитие болезни отмечено в 2007, 2009, 2013 и 2017 годах и составляло от 30,9 до 45,0%.

Среди пятнистостей листьев клевера довольно часто встречается стемфилиоз (*S. sarcinaeforme*). Заболевание поражает листья, реже черешки и стебли растений. Поражение нижних листьев наблюдается уже в I декаде мая, максимума поражение листьев всех ярусов достигает на втором укосе кормовых или в период побурения головок семенных травостоев. Заболевание более интенсивно развивается в условиях повышенной влажности воздуха и умеренных температур, так индекс развития болезни в 2007 году составил 24,4, в 2009–32,6, а в 2017 году — 33,3%. В конце лета распространение болезни может достигать 100%. При сильной степени развития болезни, теряется до 40% листовой массы, что отрицательно влияет на урожай сена, семян, их качество и на зимостойкость растений.

К пятнистостям листьев проявляющихся на клевере относится антракноз *K. caulivorum*, (*Gloeosporium caulivorum*). В условиях Сибири грибок развивается в первый год жизни во второй половине вегетации, в последующие годы патоген поражает отрастающие листья, затем черешки, стебли, цветы. Особенно сильно поражаются антракнозом раннеспелых сортов второго укоса и старовозрастные изреженные травостои клевера. Наиболее сильное развитие болезни наблюдали в 2013 году (до 30,9%) и в 2017 году (до 45,0%).

В Сибири на клевере луговом ржавчина (*U. fallens*) (*U. trifolii* (Hedw) Lev) проявляется в период бутонизации-цветения. Слабое поражение растений наблюдается почти ежегодно, но эпифитотийное развитие болезни — 2–3 раза в 10 лет. Последняя эпифитотия ржавчины в Новосибирской области (поражено 85% растений в сильной степени) отмечалась в 2009 году на клевере 2-го года жизни на многих сортах.

Наряду с вышеперечисленными листовостеблевыми заболеваниями в посевах клевера лугового встречаются бурая пятнистость (*P. trifolii*) и черная пятнистость (*P. trifolii*), развитию которых благоприятствует влажная прохладная погода. При сильном развитии болезни происходит массовое засыхание листьев, снижается урожай сена и семян.

В увлажненные годы отмечается развитие аскохитоза клевера (*A. trifolii*), которое приводит к снижению урожая зеленой массы первого и второго укосов, особенно на загущенных посевах.

Таким образом, проведенные наблюдения показали, что в посевах клевера лугового в условиях лесостепи Западной Сибири распространен целый комплекс заболеваний грибной этиологии, приводящий к значительным потерям продуктивности растений, что вызывает необходимость использования устойчивых сортов и применения комплекса защитных мероприятий.

Список литературы

1. Атлас болезней кормовых культур в Западной Сибири/ Л.Ф. Ашмарина, И.М. Горобей, Н.М. Коняева, З.В. Агаркова. — Новосибирск, 2010. — 180 с.
2. Ашмарина Л.Ф., Коняева Н.М., Агаркова З.В. Вредные организмы кормовых культур и меры борьбы с ними в Западной Сибири: науч.-метод. пособие / СибНИИ кормов СФНЦА РАН. — Новосибирск, 2017. — 43 с.
3. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы. — М., 2001. — Т. 2. — 708 с.
4. Агротехнологии производства кормов в Сибири: практ. пособие. — Новосибирск, 2013. — 248 с.
5. Ашмарина Л.Ф., Ермохина А.И., Галактионова Т.А. Особенности фитосанитарной ситуации в посевах клевера лугового в лесостепи Западной Сибири// Сибирский вестник с.-х. науки/Сиб. регион. Отд. Рос. акад. с.-х. наук.— Новосибирск, 2018.— вып. 2. — С. 33–41.

МЕТОД ОЦЕНКИ ЗАРАЖЕННОСТИ ЗЕРНОВОК ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ ФИТОПАТОГЕННЫМИ ГРИБАМИ

Е.В. Байбакова, Е.Э. Нефедьева

ФГБОУ высшего образования «Волгоградский государственный технический университет»

Аннотация Проведена оценка зараженности зерновок пшеницы и ячменя фитопатогенными грибами. Возбудители болезней содержатся во всех исследованных повторностях, в том числе наблюдалось заражение одной зерновки сразу несколькими инфекциями. Процент зараженности пшеницы фузариозными инфекциями составил 97%, грибами рода *Alternaria* — 77%, рода *Cladosporium* — 17% и рода *Helminthosporium* — 5%. Ячмень обладал большей устойчивостью и зараженностью грибами рода *Fusarium* — 68%, грибами рода *Alternaria* — 35% и рода *Cladosporium* — 2%.

Ключевые слова: микотоксичность зараженность зерновок, колонии грибов, патогенность грибов, метод определения.

Болезни, вызванные фитопатогенными грибами, снижают урожай, ухудшают его пищевую ценность, качество и семенные достоинства зерна. Возбудителями наиболее распространенных инфекций, поражающих такие сельскохозяйственные культуры как пшеница, ячмень, рожь, являются грибы рода *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*.

Они являются активными продуцентами микотоксинов, которые могут накапливаться в зараженных зерновках [1].

Микотоксины — токсичные химические вещества, вырабатываемые грибковыми видами, которые являются либо фитотоксичными, либо вредными для здоровья человека и животных. Множество исследований направлено именно на изучение грибов именно рода *Fusarium*, поскольку было доказано, что управление фитопатогенами *Fusarium* затруднено из-за их высокой генетической изменчивости и широкой специфичности хозяина [2].

Наибольшее часто встречающимися являются:

- дезоксиниваленол, продуценты которого — *Fusarium graminearum* и *F. Culmorum*;

- зеаралеон, основные продуценты — *F. raminearum*, *F. culmorum*, *F. Semitectum*;
- Т-2 токсин, основные продуценты — *Fusarium sporotrichioides* и *F. Poae*;
- охратоксины, основные продуценты — *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* и *Penicillium verrucosum*;
- фумонизины — в это семейство входит более 15 соединений. Наиболее часто в природных условиях встречается фумонизин В1. Основными продуцентами являются *F. verticillioides* и *F. Proliferatum*;
- семейство афлатоксинов включает не менее 16 соединений. Наиболее активным является афлатоксин В1. Продуценты афлатоксинов — *Aspergillus flavus* и *A. Parasiticus* [3].

Основными поражаемыми культурами являются пшеница, ячмень и рожь.

В 2002 г. был введен в действие разработанный ВНИИЗ ГОСТ Р 51916–2002 «Зерновые культуры. Метод определения фузариозных зерен», распространяющийся на зерно пшеницы, предназначенное для продовольственных и кормовых целей. Для ржи и ячменя ранее были утверждены «Временные методические рекомендации по визуальному определению фузариозного зерна ячменя и ржи» (М., 1992) и «Методические указания по учету фузариоза колоса и визуальному определению содержания фузариозных зерен в пшенице и ячмене» (М., 1996), составленные при участии ВНИИЗ.

Все эти метод основаны на визуальном обнаружении и выделении путем ручной разборки фузариозных зерен по комплексу внешних отличительных признаков: форме и выполненности зерна, характеристике поверхности и цвета зерна, структуре эндосперма, наличию признаков грибной инфекции на поверхности, жизнеспособности и окраске зародыша. Однако, оценка может быть излишне субъективной, особенно в отношении фузариоза пленчатых

культур — ячменя, овса, риса и др. В этом случае более эффективным и практически обязательным является метод смыва.

На поверхности зерновок часто встречаются в большом количестве условно патогенные и патогенные грибы, к тому же зерновки пленчатых культур, в частности ячменя, покрыты цветковыми пленками, которые неплотно прилегают к зерновке и легко заселяются даже слабыми патогенами. По этой причине анализ может показать зараженность образца выше реальной. Обязательна поверхностная стерилизация. Для выявления зараженности образца поверхностно стерилизованные зерновки, помещают на питательную агаризованную среду или во влажную камеру. При необходимости определения грибов до видовой принадлежности, требуется их выделение в чистую культуру [4].

Материалы и методы. Анализ проводили на базе Института биологии Варшавского университета. В качестве исследуемых образцов использовали зерновки пшеницы (*Triticum sp.* сорт *Julius*) и ячменя (*Hordeum sativum* сорт *Gloria*) 2017 г., которые не имели предпосевных обработок. В качестве среды использовали питательную агаризованную среду Чапека, в которую предварительно перед автоклавированием добавляли в виде стерильного раствора детергент тритон (Triton X100), ограничивающий скорость линейного роста, предотвращающий образование обильного воздуш-

ного мицелия и при этом не влияющий на структуру исследуемых объектов (рабочая концентрация 2×10^{-4}). При использовании тритона колонии гриба в чашке Петри не сливаются в течение нескольких недель, что влияет на точность результатов анализа микофлоры зерновок.

Автоклавирование питательной среды проводили в течении 30 мин при 1 атм., воды, бумаги, стеклянной посуды, металлических предметов — 60 мин. при 2 атм.

Перед посевом питательный агар охлаждали до 55 °С.

Для подготовки зерновок из среднего образца отбирали навески по 10 г и маркировали. Образцы зерновок помещали в пластиковые контейнеры с мелкими отверстиями, позволяющими свободно циркулировать жидкостям, но удерживающими анализируемый материал.

Для удаления поверхностной заспоренности проводили стерилизацию поверхности зерновок. Зерновки тщательно промывали проточной водопроводной водой, вначале с добавлением моющего средства (ПАВ), а затем чистой водой. Это позволяет смыть кусочки почвы и других примесей. После этого зерно подвергали поверхностной стерилизации.

В качестве стерилизующих агентов использовали 5% гипохлорит натрия (NaOCl) — 5 мин. После стерилизации зерновки тщательно промыли несколько раз стерильной водой.

Таблица 1 — Анализ зараженности зерновок пшеницы

Род	Общее число зерновок	Число зараженных зерновок	% зараженных зерновок	Среднее	Ст. ошибка
<i>Fusarium</i>	120	116	97%	9,67	0,33
<i>Alternaria</i>	120	92	77%	7,67	0,77
<i>Cladosporium</i>	120	20	17%	1,67	0,41
<i>Helminthosporium</i>	120	6	5%	0,50	0,36

Таблица 2 — Анализ количества колоний на пшенице с учетом на 10 зерновок в каждой повторности

Род	Среднее	Ст. ошибка
<i>Fusarium</i>	25,00	1,55
<i>Alternaria</i>	11,50	2,06
<i>Cladosporium</i>	2,17	0,58
<i>Helminthosporium</i>	0,50	0,36

Таблица 3 — Анализ зараженности зерновок ячменя

Род	Общее число зерновок	Число зараженных зерновок	% зараженных	Среднее	Ст. ошибка
<i>Fusarium</i>	120	82	68%	6,83	0,52
<i>Alternaria</i>	120	42	35%	3,50	0,50
<i>Cladosporium</i>	120	2	2%	0,17	0,17
<i>Helminthosporium</i>	120	0	0%	0,00	0,00

Таблица 4 — Анализ количества колоний на ячмене с учетом на 10 зерновок в каждой повторности

Род	среднее	ст. ошибка
<i>Fusarium</i>	9,17	0,83
<i>Alternaria</i>	4,17	0,72
<i>Cladosporium</i>	0,17	0,17
<i>Helminthosporium</i>	0,17	0,17

Рис. 1 — Зараженность зерновок пшеницы, %

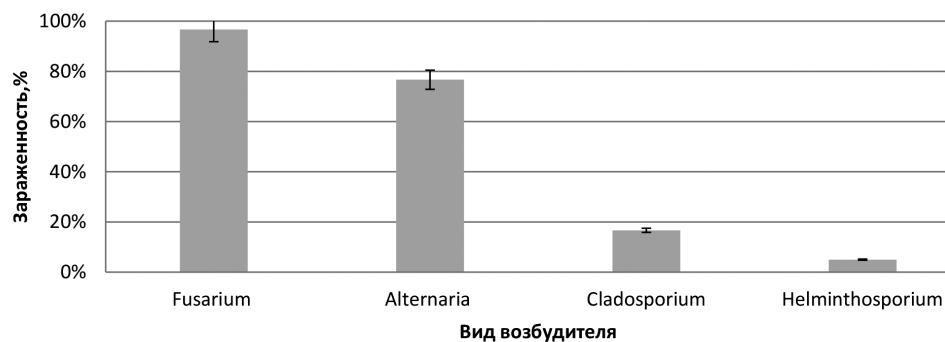


Рис. 2 — Зараженность зерновок ячменя, %

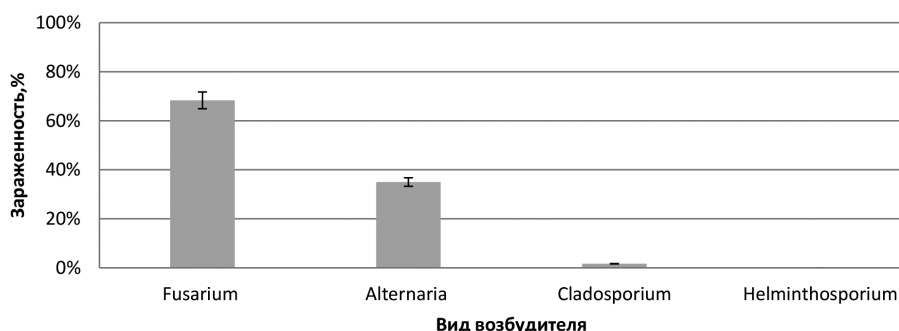
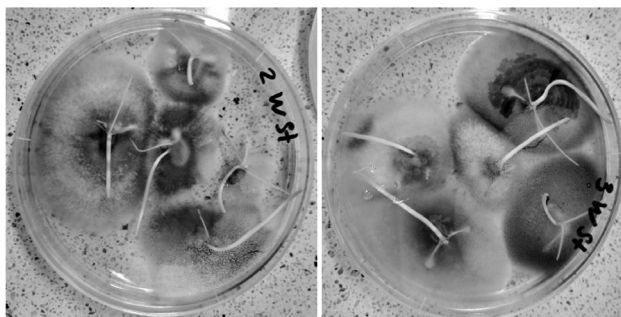


Рис. 3–4 — Зараженные зерновки на питательной среде в чашках Петри



В боксе зерновки брали стерильным пинцетом, просушивали на стерильной фильтровальной бумаге. Просушенные стерильные зерновки из контрольной пробы (12 повторностей), для определения зараженности, раскладывали стерильным пинцетом в чашки Петри с предварительно разлитой и застывшей питательной средой по 10 зерновок в каждую на одинаковом расстоянии друг от друга.

Чашки Петри с анализируемыми образцами выдерживали в термостате в темноте при температуре 23–25 °С. В течение 7 суток их просматривали и подсчитывали колонии грибов, выросших вокруг зерновок.

Результаты и обсуждения. Полученные результаты представлены в табл. 1–4, диаграммах на рис. 1–2 и показательных фото с пораженными зерновками на рис. 3–4.

Анализ видового разнообразия состава грибов для прогнозирования развития заболеваний проводили на уровне рода визуально с помощью микроскопа. Среднюю зараженности рассчитывали на основе зараженности зерновок всех образцов выборки. Зараженность среднего образца зерновок грибами определяли как отношение числа зерновок, зараженных грибами, к

общему числу анализируемых зерновок. Подсчитывали среднее квадратичное отклонение и статистическую ошибку.

Согласно табл. 1–2 и рис. 1, зерновки пшеницы наиболее поражены грибами рода *Fusarium* на 97%. Среди зараженных зерновок выявлены грибы рода *Alternaria* — 77%, в меньшей степени грибы рода *Cladosporium* — 17% и 5% среди зараженных грибами рода *Helminthosporium*.

Согласно табл. 3–4 и рис. 2, зерновки ячменя наиболее поражены грибами рода *Fusarium* на 68%. В меньшей степени грибами рода *Alternaria* — 35% и рода *Cladosporium* — 2%. В общей динамике, зерновки ячменя имеют меньшее количество зараженных и колоний, по сравнению с пшеницей. Это может свидетельствовать и об их большей устойчивости по отношению к действующим веществам фунгицидов при обработке в дальнейшем исследовании.

Результаты данного исследования показали, что зерновки действительно значительно поражены фитопатогенными грибами, что позволяет использовать данные образцы зерновок в дальнейших исследованиях по разработке защитных мер для растений с целью получить достоверные данные об эффективности этих мер. Для подобных задач данный метод является наиболее оптимальным. Безусловно, по точности он уступает методу выявления количества ДНК патогена с помощью количественной ПЦР (ПЦР в реальном времени, ПЦРРВ) [5], но при этом он проще в исполнении и затрате ресурсов. При этом, полученный результат является значительно более точным чем простая визуальная оценка зерновок вручную.

Список литературы

1. Львова Л.С., Яицких А.В., Метод определения фузариозных зерен ржи и ячменя // Защита и карантин растений, 2014 г., с. 42–44.

- Lakshmi Priya Perincherry, Lalak-Kańczugowska J., Sępień Ł., Fusarium-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions // *Toxins* (Basel), 2019, v. 11(11), p. 664.
- Binder E.M., Tan L.M., Chin L.M. et al. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feeds ingredients // *J. Animal feed science and technology*, 2007, v. 137, p. 265–282.
- Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В., Фузариоз зерновых культур // *Защита и карантин растений*, № 5, 2011 г, с. 70–112.
- Yli-Mattila, Paavanen-Huhtala et al., Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia // *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2008, v. 41(4), p. 243–260.

ПРОДУКТИВНОСТЬ СОИ СЕВЕРНОГО ЭКОТИПА СОРТА СВЕТЛАЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОРАЖЕНИЯ ПЕРОНОСПОРОЗОМ В УСЛОВИЯХ КАЛУЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Демьяненко Е.В.

Калужский филиал РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

В России основные посевы сои сосредоточены на Дальнем Востоке и в Краснодарском крае. Но постепенно соя продвигается на север, расширяются посевы сои в Поволжье и в Нечерноземной зоне Российской Федерации. Сорты сои северного экотипа имеют преимущество перед традиционными сортами, так как содержат больше белка.

В настоящее время сорта сои северного экотипа интродуцируются в Центральном Нечерноземье. Как и в других районах сеяния, соя здесь также поражается болезнями, однако степень поражения растений и влияние ее на показатели симбиотической и фотосинтетической деятельности посевов и урожай еще не до конца изучены. Полной гибели посевов сои от болезней почти не наблюдается, но их вредоносность огромна. Часто происходит поражение проростков и всходов и их отмирание, увядание растений в последующие фазы развития, поражение листьев и плодов. Общий недобор урожая от болезней по литературным данным нередко составляет 20...30% [1].

Ранее проведенные исследования выявили следующие болезни сои в Нечерноземной зоне — фузариоз, аскохитоз, вирус задержки роста. Исследования проводились с сортом Магева [2].

Цель наших исследований — изучить влияние поражения пероноспорозом на развитие фотосинтетического, симбиотического аппарата и продуктивность растений сои сорта Светлая.

Исследования проводились на опытном поле Калужского филиала МСХА имени К.А. Тимирязева с 1988 по 2018 год.

Почва опытного участка дерново-подзолистая супесчаная на флювиоглянцевых песках, подстилаемых моренной. Содержание гумуса — 1,18%, содержание P_2O_5 — 256 мг/кг почвы, K_2O — 41 мг/кг почвы, Бор — 0,5 мг/кг, Молибден — 0,23 мг/кг. Кислотность почвы — 5,8.

Почва опытного участка характеризуется низким содержанием гумуса и калия, богата фосфором и его соединениями, особенно в пахотном горизонте, что объясняется малой подвижностью фосфора и способностью закрепляться в ППК. Реакция среды слабокислая.

Объект исследования — сорт сои — Светлая.

Площадь делянки — 25 м², повторность 4-кратная, размещение вариантов рандомизированное.

Во время проведения исследований использовали следующие методики: методику определения влажности почвы, проведения фенологических наблюдений, методику учета болезней, проведения биометрического анализа, определения площади листьев (методом высечек), методику определения структуры урожая. Результаты исследований обработаны математически, проведен дисперсионный анализ (по Б.А. Доспехову) [3].

Наиболее широко пероноспороз распространен на Дальнем Востоке. Степень поражения листьев районированных сортов достигает здесь 50...75%, а инфицированность семян в отдельных хозяйствах — 20%, всхожесть их при этом снижается почти на 30%. Зараженные семена дают до 8% всходов с пораженными семядолями [4].

Распространенность пероноспороза (*Peronospora*) в среднем по годам исследования составила 21%, балл поражения — 3, развитие болезни — 15, 75%.

Фотосинтез — важный физиологический процесс, определяющий уровень урожайности сельскохозяйственных культур.

По результатам биометрических анализов наибольшая площадь листьев формируется у здоровых растений в фазу образования бобов (32,0 тыс.м²/га). Растения сои без симптомов поражения пероноспорозом формируют большую площадь листовой поверхности на протяжении всей вегетации, тогда как растения с поражением в 3 балла формируют площадь листьев на 30–40% меньше.

Максимальный фотосинтетический потенциал за вегетацию сформирован здоровыми растениями — 1229 тыс. м² дней/га.

Формирование симбиотического аппарата находится в прямой зависимости от площади листьев и состояния листовой поверхности. При поражении листьев пероноспорозом значительно снижается ассимиляционная поверхность и, как следствие, снижается величина симбиотического аппарата. Количество клубеньков, млн.шт./га у здоровых растений — 10, у больных — 7. Здоровые растения сои формируют 337 кг/га клубеньков, а пораженные пероноспорозом — 140 кг/га. Общий симбиотический потенциал, тыс. кг дней/га, у здоровых растений составляет — 42, у больных — 12.

Урожай бобовых культур, в частности сои является конечным результатом симбиотической и фотосинтетической деятельности посевов. Семенная продуктивность растений зависит от числа бобов и семян на одном растении, массы 1000 семян и других показателей структуры урожая.

Анализ структуры урожая здоровых и пораженных растений сои показал резкие различия по продуктивности. Количество бобов, шт./растение — в 3 раза больше у здоровых растений; количество семян, шт./растение — у здоровых растений больше в 2–2,5 раза. У пораженных растений в 1,5–3 раза снижаются такие показатели — как масса семян штук на боб, масса семян грамм на растение, масса 1000 семян, и, соответственно, урожайность. Урожайность здоровых растений — 24,7 ц/га существенно отличается от урожайности пораженных растений — 9,7 ц/га, НСР₀₅ — 1,3. Потери урожая составили 61%.

Таким образом, возбудитель пероноспороза наносит значительный вред сортам сои северного экотипа в условиях Калужской области.

Для снижения вероятности развития болезней на сое необходимо заблаговременно проводить защитные мероприятия.

Список литературы

1. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. / В.Ф. Пересыпкин. — М.: Урожай, 1989.
2. Демьяненко Е.В. Урожайность сои северного экотипа в зависимости от степени повреждения и поражения растений. Москва, 2002.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов — М.: Агропромиздат. — 1985. — 416 с.
4. Жуковская С.А. Болезни сои на Дальнем Востоке. // С.А. Жуковская, Н.И. Серебренникова, Л.С. Куликова /Защита растений. №10. 1990. — с. 42.

ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ ФИТОФТОРОЗА И АЛЬТЕРНАРИОЗА

Денисенков И.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина Т.И., Кузнецова М.А.
ФГБНУ ВНИИ фитопатологии, Большие Вяземы

Картофель является одной из наиболее важных сельскохозяйственных культур, обеспечивающих продовольственную безопасность России (Анисимов и др., 2009).

Несмотря на динамичный рост интенсивности производства картофеля, урожайность в РФ остается весьма низкой, на уровне 20 т/га. Существенным фактором, снижающим продуктивность и качество картофеля, являются развивающиеся на нем возбудители многочисленных болезней. Вместе с тем, фитофтороз (возб. *Phytophthora infestans*) и альтернариоз (возб. *Alternaria solani* и *A. alternata*) остаются наиболее вредоносными болезнями картофеля (Кузнецова и др., 2010).

Альтернариоз картофеля распространен на территории нашей страны; поражает листья, стебли и клубни. В отдельные сезоны, благоприятные для развития альтернариоза, эта болезнь может приводить к потере до 40% урожая (Кузнецова и др., 2010).

Фитофтороз встречается практически во всех картофелеводческих регионах России и остается наиболее вредоносным заболеванием. Оомицет *Phytophthora infestans* поражает листья и стебли, вызывая их преждевременное отмирание, и, в связи с этим, уменьшение урожая. Кроме того, он инфицирует клубни, которые впоследствии гнивают во время хранения, в результате чего возрастают общие потери урожая (Кузнецова, 2007).

По самой осторожной оценке, мировые потери от развития фитофтороза и затраты на борьбу с ним превышают 5 млрд долларов США в год (Fry, 2013). Следует также отметить, что патоген способен поражать и другие пасленовые культуры, в первую очередь, томаты. Например, в 2009 г. пандемия фитофтороза томатов на восточном побережье США привела к огромным потерям урожая этой культуры (Fry, 2013).

Вредоносность фитофтороза и альтернариоза можно существенно уменьшить с помощью интегрированной защиты картофеля и томатов, включающей использование здорового семенного материала, выращивание устойчивых сортов, а также современных химических средств защиты. Выращивание устойчивых сортов дает возможность существенно сократить применение фунгицидов. Однако, как известно, устойчивость их к фитофторозу, обычно, недолговечна. Основная причина — высокая изменчивость *P. infestans*. Поэтому в настоящее время наиболее надежным способом защиты картофеля от этих болезней является химический метод. Известно, что применение фунгицидов задерживает начало и снижает скорость развития данных болезней (Кузнецова, 2007).

В последние годы для защиты картофеля и томатов от фитофтороза и альтернариоза используются фунгициды на основе различных действующих веществ, в том числе: Ширлан, Зуммер (д.в. Флуазинам); Квадрис (д.в. Азоксистробин).

Флуазинам — контактное действующее вещество с профилактическим действием для защиты картофеля от фитофтороза. Предотвращает прорастание спор, их рост и образование апрессориев, а также выход зооспор.

Азоксистробин — системное действующее вещество, быстро адсорбируется через листовую поверхность и передвигается акропитально по ксилеме. Распространяется внутри растительных тканей и предотвращает смывание осадками. Азоксистробин до недавнего времени был зарегистрирован для защиты томатов от мучнистой росы, альтернариоза и фитофтороза.

В настоящее время указанные препараты достаточно широко применяются на картофеле и томатах

Таблица — Метеорологические данные периода вегетации 2017г. (по данным метеостанции ВНИИФ, Московская область)

Основной показатель	Месяц/декада											
	Май			Июнь			Июль			Август		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Температура воздуха, °С												
Среднегодовья	10,7	12,1	13,6	15,2	16,1	16,8	17,2	17,8	17,6	17,5	15,6	14,6
Среднее	12,3			16,0			17,4			15,9		
Текущего года	9	8,9	13,3	11,8	14,9	15,0	14,4	17,6	19,2	19,3	20,2	14,9
Среднее	10,4			13,9			17,2			18,0		
Относительная влажность воздуха, %												
Среднегодовья	66	68	69	70	73	73	65	72	65	63	78	76
Среднее	68			72			67			72		
Текущего года	57	62	64	69	72	72	78	75	70	69	69	75
Среднее	61			71			74			72		
Осадки, мм												
Среднегодовья	13,0	18,5	17,2	23,9	22,1	25,5	28,9	28,0	26,2	22,8	22,5	26,0
Сумма	S			S			S			S		
Текущего года	18,6	19,6	12,8	20	34,2	60,9	65,9	59,2	12,5	9,3	0,1	0,2
Сумма	S			S			S			S		
Среднегодовые данные S												
Данные сезон 2017 год S												

против целевых объектов. Однако, в связи с тем, что в последние годы на полях достаточно часто можно наблюдать одновременное развитие фитофтороза и альтернариоза, картофелеводы при выборе фунгицидов, предпочитают препараты с широким спектром действия, для одновременной защиты посадок картофеля от указанных болезней.

Целью наших исследований было оценить эффективность применения препарата Вендетта, КС, содержащего в своем составе два действующих вещества — азоксистробин (150 г/л) и флуазинам (375 г/л) против фитофтороза и альтернариоза.

Оценку эффективности препарата Вендетта, КС проводили в сравнении с контролем (без обработки), а также препаратом Сектин Феномен, ВДГ содержащего в своем составе два действующих вещества — манкоцеб (500 г/кг) и фенамидон (100 г/кг).

Опыт проводили в полевых условиях на естественном инфекционном фоне на опытном участке ФГБНУ ВНИИФ в Одинцовском районе Московской области.

Размер опытных делянок составлял 42 м², повторность опытов 4-кратная.

Почва на опытном участке дерново-подзолистая, среднесуглинистая. Агротехнические мероприятия по уходу за опытными растениями включали: зяблевую вспашку, весновспашку, предпосадочную нарезку борозд, под предшественик вносили 50 т/га органических удобрений и перед посадкой — минеральные удобрения в дозе 60 кг/га по д.в.

Варианты опыта:

- Опрыскивание вегетирующих растений фунгицидами по схеме: Ридомил Голд МЦ в дозе 2,5 кг/га (2 обр.); Ревус Топ в дозе 0,6 л/га, (1 обр.); Вендетта, КС в дозе 0,5 л/га (2 обр.); Зуммер в дозе 0,4 л/га (1 обр.).
- Опрыскивание вегетирующих растений фунгицидами по схеме: Ридомил Голд МЦ в дозе 2,5 кг/га

(2 обр.); Ревус Топ в дозе 0,6 л/га, (1 обр.); Сектин Феномен, ВДГ в дозе 1,25 кг/га (2 обр.); Зуммер в дозе 0,4 л/га (1 обр.).

- Контроль (без обработок).

Учеты пораженности растений картофеля фитофторозом и альтернариозом проводили от даты проявления болезней до отмирания листьев через каждые 7–10 дней по шкале Британского микологического общества (James, 1972). На основе учетов пораженности ботвы в поле вычисляли площадь под кривой развития болезни и потери урожая с помощью компьютерной программы «Потери». При уборке урожая оценивали урожайность и товарность клубней (Кузнецова, 2006).

Полученный экспериментальный материал подвергался математической обработке методом статистического анализа при 95% уровне достоверности (Доспехов Б.А., 1985).

Результаты

Высокая восприимчивость сорта Аризона к фитофторозу и сложившиеся в текущем году в Московской области погодные условия способствовали эпифитотийному развитию фитофтороза. В течение июня и первых двух декад июля текущего года температура воздуха не достигала средних многолетних величин. Кроме того, отмечено существенное количество выпавших осадков (таблица). В таких условиях в контроле развитие болезни на ботве было ранним (в фазу полных всходов) и в дальнейшем имело эпифитотийный характер: пораженность растений во второй декаде августа составила более 60%, а в начале третьей декады августа зафиксирована полная их гибель (рис. 1). Несмотря на сложные погодные условия, обе схемы защиты показали высокую эффективность в снижении вредоносности болезни (рис. 1). Вместе с тем, лучший результат показала схема 1, включающая препарат Вендетта. Площадь под кривой, описывающая динамику развития болезни в испытываемом варианте составила 135 ед; в варианте с

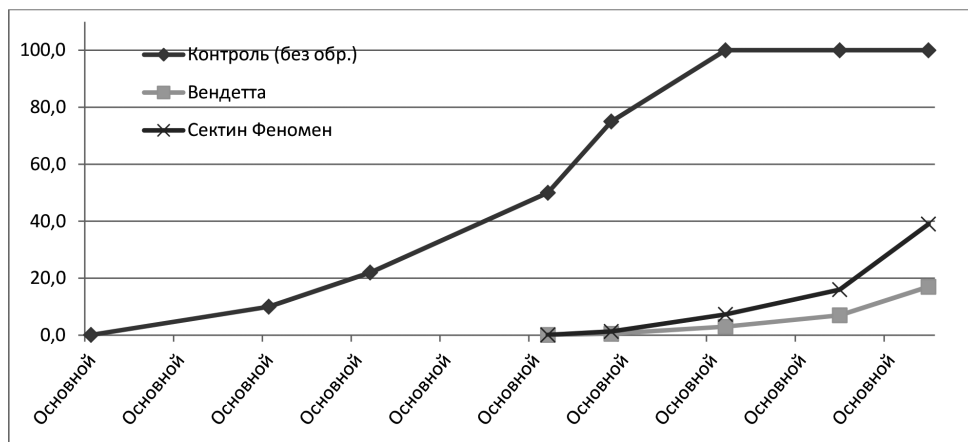


Рисунок 1 — Динамика фитофтороза картофеля в сравниваемых вариантах опыта, сорт Аризона, ВНИИФ, Раменская Горка, 2017 г.

Первичное проявление фитофтороза в контроле (без обработки) в первой декаде июля

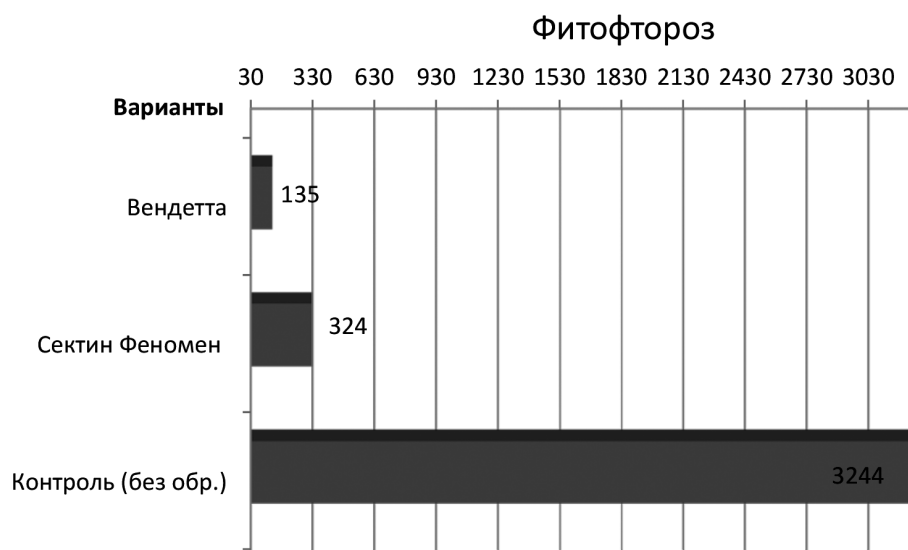


Рисунок 2 — Площадь под кривой, описывающая динамику развития болезни (AUDPC), (ед.) в сравниваемых вариантах опыта, сорт Аризона, ВНИИФ, Раменская Горка, 2017г., ($НСР_{0,95}=93,3$)

Биологическая эффективность применения препаратов: Вендетт — 95,8%; Сектин Феномен — 90,0%

Площадь под кривой, описывающая динамику развития болезни, ед.

Рисунок 3. Урожайность ($НСР_{0,95}=45,1$) и товарность клубней картофеля ($НСР_{0,95}=2,6$) в сравниваемых вариантах опыта, (сорт Аризона, ВНИИФ, Раменская Горка, 2017 г.)

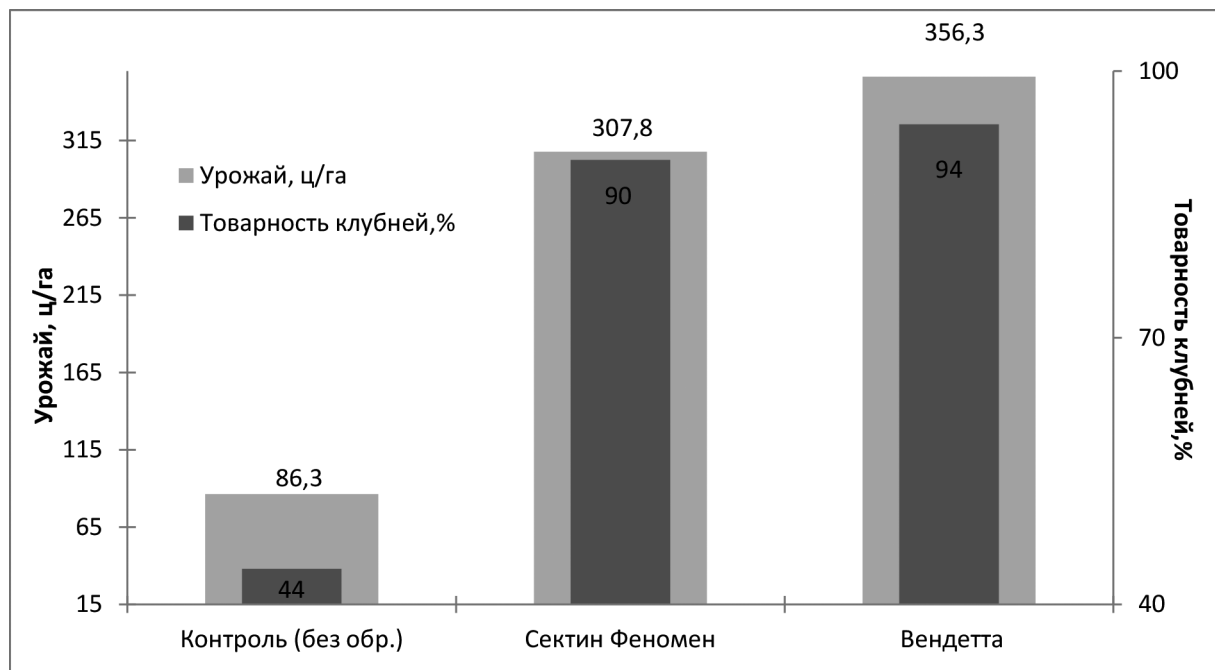
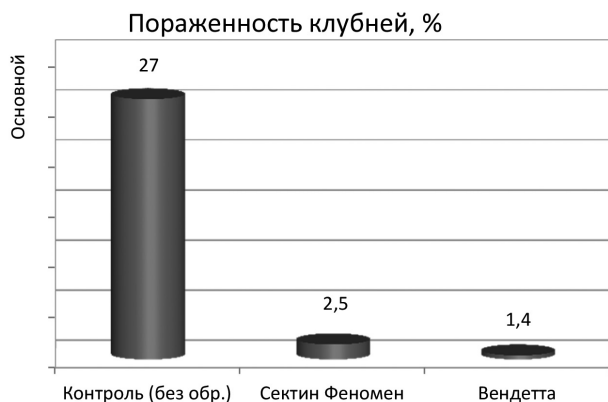


Рисунок 4 — Число пораженных фитофторозом клубней (НСР_{0,95}=2,3) (сорт Аризона, ВНИИФ, Раменская Горка, 2017 г.)



препаратом Сектин Феномен — 324 ед.; в контроле (без обработки) — 3244 ед. НСР_{0,95}=93,3 (рис. 2). Биологическая эффективность применения препаратов — 95,8% и 90,0%, соответственно.

Первые альтернариозные пятна на растениях картофеля были отмечены 30 августа в варианте 2, где растения защищали по схеме: Ридомил Голд МЦ (2 обр.), Ревус Топ (1 обр.), Сектин Феномен (2 обр.), Зуммер (1 обр.). На дату последнего учета (15 сентября) пораженность растений альтернариозом в указанном варианте не превышала 3%; в варианте 1, где растения защищали по схеме: Ридомил Голд МЦ (2 обр.), Ревус Топ (1 обр.), Вендетта (2 обр.), Зуммер (1 обр.) растения не имели симптомов болезни до конца вегетационного сезона.

Урожайность картофеля соответствовала динамикам фитофтороза в сравниваемых вариантах: контроль (без обработки) — 86,3 ц/га, в варианте с препаратом Вендетта — 356,3 ц/га; в варианте с препаратом Сектин Феномен — 307,8 ц/га (рис. 3). Таким образом, применение препарата Вендетта позволило получить максимальную прибавку урожая в 270 ц/га; в варианте с препаратом Сектин Феномен — 221,5 ц/га.

Качество убранный урожай оценивали через месяц после закладки клубней на хранение. По резуль-

татам оценки установлено, что оба варианта защиты картофеля существенно снижают пораженность клубней фитофторозом (на 25,6% и 24,5% соответственно, по сравнению с контролем) и повышают товарность клубней на 50% и 46%, соответственно (рис. 3 и 4).

Таким образом, в условиях эпифитотийного развития фитофтороза и слабого развития альтернариоза обе испытываемые схемы защиты показали высокую эффективность в снижении вредоносности болезней. Вместе с тем, максимальная урожайность и товарность клубней имели место в варианте с препаратом Вендетта, где отмечено его преимущество в снижении вредоносности фитофтороза и полное подавление развития альтернариоза по сравнению с эталонным препаратом — Сектин Феномен.

Список литературы

1. Анисимов Б.В., Белов Г.Л., Варицев Ю.А., Еланский С.Н., Иванюк В.Г., Г.К. Журомский, С.К. и др. / Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков — М.: Картофелевод, 2009. — 256 с.
2. Кузнецова М.А., Козловский Б.Е., Рогожин А.Н., и др. / Фитофтороз и альтернариоз картофеля: программа защитных действий // Картофель и овощи. — 2010. — № 3. — С. 27–30.
3. Кузнецова М.А. Защита картофеля. / Защита и карантин растений (Приложение). — 2007. — № 5. — С. 1–42.
4. The 2009 Late Blight Pandemic in the Eastern United States — Causes and Results / W.E. Fry // Plant Disease. — 2013. — V. 97(3). — P. 296–306.
5. James W.C., Shih C. S., Hodson W.A. and Callbeck L.C. The quantitative relationship between late blight of potato and loss in tuber yield. / Phytopathology. — 1972. — No. 62. — P. 92–96.
6. Кузнецова М.А. Болезни картофеля при хранении // Защита и карантин растений. — 2006. — № 10. — С. 37–44.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОФУНГИЦИДОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ РАЗВИТИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПЛЕСНЕВИДНЫХ ГНИЛЕЙ ВИНОГРАДА

Галкина Е.С., Болотьянская Е.А.
ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН», Ялта

Одним из основных факторов, лимитирующих эффективное виноградарство, удовлетворение потребностей населения высококачественными столовым виноградом и виноградовинодельческой продукцией, является поражение виноградного растения комплексом вредных организмов. В последние годы на виноградных насаждениях Крыма в условиях повышения теплообеспеченности периода вегетации все большее хозяйственное значение приобретают, так называемые,

«летние» или плесневидные гнили ягод винограда. Преобладающими патогенами грибной этиологии, относящимися к возбудителям гнилей винограда в регионах с жарким летом, являются *Aspergillus niger* Tiegh., *Rizopus nigricans* Ehr., а также грибы родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* и др. [1–3].

Вредоносность плесневидных гнилей заключается, как в прямой потере урожая винограда технических и столовых сортов, снижении его качества, ухудшении

товарного вида продукции, так и в загрязнении изюма, виноградного сока, суслу и вина микотоксинами (охранитоксин А и фумонизин), образующие которые способны представители родов *Aspergillum* и *Penicillium*. В настоящее время содержание в вине, виноградном соке и сусле охранитоксина А регулируется в соответствии с европейским Регламентом Комиссии (ЕС)

№ 1881/2006 [4–9].

Известные способы контроля развития возбудителей плесневидных гнилей на гроздях винограда носят в основном профилактический характер и направлены на предохранение ягод от повреждения насекомыми и другими болезнями, что достигается своевременным применением инсектицидов и фунгицидов. Сложность заключается в том, что возбудители данного заболевания активно развиваются в период созревания винограда, когда химические фунгициды применять запрещено. В связи с этим актуальным является поиск эффективных и безопасных средств защиты от плесневидных гнилей для виноградных насаждений ценных технических и столовых сортов в условиях Крыма [10].

Таким образом, цель исследований 2019 года заключалась в скрининге современных биофунгицидов для эффективного контроля возбудителей плесневидных гнилей винограда *Aspergillus niger* v. Tiegh, *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link, *Penicillium* sp. в условиях *in vitro*.

В лабораторных условиях было протестировано 6 биофунгицидов в основном отечественного производства, применяемые концентрации препаратов соответствовали рекомендациям производителей (таблица 1).

Испытания проводились согласно методике по определению эффективности фунгицидов [11]. В ка-

честве питательной среды использовали картофельно-глюкозный агар (КГА). На питательную среду, содержащую препарат, вносили инокулом стерильной микробиологической петлей с поверхности колонии тестируемых грибов. Контрольный вариант — среда без внесения препаратов. Инокулированные чашки Петри осматривали каждые сутки. Эффективность определяли по формуле Эббота (5) по диаметру области разрастания мицелия грибов на питательной среде при достижении ее максимального размера на контрольном варианте.

Полученные результаты тестирования в условиях *in vitro* фунгицидной активности 6 биофунгицидов в отношении, выделенных в чистую культуру, видов патогенных микромицетов возбудителей плесневидных гнилей ягод винограда представлены в таблице 2.

Препарат Оргамика С, Ж (титр не менее 5×10^9 КОЕ/мл *Bacillus amyloliquefaciens*, штамм OPS) ингибировал на 10-е сутки рост колоний *Aspergillus niger* с эффективностью 100%, *Rhizopus nigricans*, *Cladosporium herbarum* и *Penicillium* sp. — 94%, 97% и 93% соответственно. Также высокую фунгицидную активность (100%) показал препарат PS-11 (10^9 КОЕ/мл *Pseudomonas* sp. 11RW) в отношении *Penicillium* sp. на 10-е сутки культивирования, на уровне 80–90% данный биофунгицид контролировал рост колоний *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* и *Rhizopus nigricans* (таблица 2).

При изучении фунгицидной активности биопрепарата Серенада АСО, КС (титр не менее 1×10^9 КОЕ/мл *Bacillus amyloliquefaciens*, штамм OST-713), установлена высокая эффективность (100%) в контроле всех изучаемых видов патогенных микромицетов, как на 5-е, так и на 10-е сутки их культивирования (таблица 2).

Таблица 1 — Перечень тестируемых биопрепаратов

Название, форма препарата	Действующее вещество препарата	Концентрация препарата, %
1. Оргамика С, Ж	титр не менее 5×10^9 КОЕ /мл <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , штамм OPS-32	0,003
2. Оргамика Ф, Ж	титр не менее 1×10^8 КОЕ /мл <i>Trichoderma asperellum</i> OPF-19	0,003
3. Псевдобактерин-3, Ж	титр не менее 2×10^9 КОЕ /мл <i>Pseudomonas auerofaciens</i> , штамм ВКМ В-2391Д	0,003
4. Серенада АСО, КС	титр не менее 1×10^9 КОЕ/мл <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , штамм OST-713	0,001
5. PS-11	10^9 КОЕ/мл <i>Pseudomonas</i> sp. 11RW	0,002
6. Биокомпозит	10^9 колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл консорциум штаммов нескольких видов полезных бактерий	0,004

Таблица 2. Биологическая эффективность биофунгицидов в отношении микромицетов возбудителей плесневидных гнилей винограда (2019 г.)

Препарат	<i>Aspergillus niger</i>		<i>Rhizopus nigricans</i>		<i>Cladosporium herbarum</i>		<i>Penicillium</i> sp.	
	5	10	5	10	5	10	5	10
1. Оргамика С, Ж	100	100	100	94	97,7	97	93,3	93,1
2. PS-11	88,6	86	88	94	87,1	91,4	100	100
3. Серенада АСО, КС	100	100	100	100	100	100	100	100
4. Оргамика Ф, Ж	81,9	40,6	2,1	0	94,7	27	86,6	83,6
5. Псевдобактерин-3, Ж	39,1	30,4	16,3	0	92,3	24,1	60	53,8
6. Биокомпозит	36,3	28	88	76	83,8	87,2	47	32

Препарат Оргамика Ф, Ж (титр не менее 1×10^8 КОЕ/мл *Trichoderma asperellum* ОРФ-19) с эффективностью более 80% на 5-е и 10-е сутки контролировал рост колоний *Penicillium sp.*, а развитие *Aspergillus niger* и *Cladosporium herbarum* подавлялось на 82 и 95% только на 5-е сутки культивирования.

Биофунгицид Псевдобактерин (титр не менее 2×10^9 КОЕ/мл *Pseudomonas auerofaciens*, штамм ВКМ В-2391Д) эффективно контролировал развитие *Cladosporium herbarum* (на уровне 80–90%) и *Penicillium sp.* (на 60%) в течении 5 суток (таблица 2).

Использование препарата Биокомполит (10^9 КОЕ/мл) позволило получить на 10-е сутки эффективность около 90% в отношении *Cladosporium herbarum*, а рост колоний *Rhizopus nigricans* контролировался на 88 и 76% на 5-е и 10-е сутки соответственно (таблица 2).

В результате проведенного скрининга выделены, как наиболее биологически активные в отношении большинства из изученных видов патогенных микромицетов, возбудителей плесневидных гнилей ягод винограда в условиях Крыма такие биофунгициды, как Серенада АСО, Оргамика С, Ж и PS-11, которые могут быть изучены в полевых условиях для контроля их развития.

Список литературы

1. Алейникова, Н.В. Биологическое обоснование формирования региональных ассортиментов фунгицидов для защиты винограда от болезней в условиях Крыма / Н.В. Алейникова, Е.С. Галкина, Е.А. Болотанская // Проблемы и перспективы инновационного развития отраслевого и территориального развития АПК: материалы XXII межд. науч.-практ. конф. (11–17 сент. 2017 г.) — Алушта: Отечество. Научно-технический союз Крыма, 2017. — С. 196–202.
2. Rosi C. Black rot & Summer Bunch Rot (Sour rot) [Electronic resource] / C. Rosi // The Grapevine. — 2012. — 12 p. — Режим доступа: <https://cynthiarosi.files.wordpress.com/2011/03/black-rot-sour-rot-article-april-2012.pdf>.
3. Duncan, R. A. Population dynamics of epiphytic mycoflora and occurrence of bunch rots of wine grapes as influenced by leaf removal / R. A. Duncan, J. J. Stapleton and G, M. Leavitt // Plant Pathology. — 1995. — № 44. — P. 956–965.
4. Cabanès, F. J. What is the source of ochratoxin A in wine? / F. J. Cabanès et al. // Int. J. Food Microbiol. — 2002. — 79. — P. 213–215.
5. Frisvad, J. C. Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger* / J. C. Frisvad et al. // J. Agric. Food Chem. — 2007. — 55. — P. 9727–9732.
6. Mansson, M. Isolation and NMR characterization of fumonisin B2 and a new fumonisin B6 from *Aspergillus niger* / M. Mansson et al. // J. Agric. Food Chem. — 2010. — 58. — P. 949–953.
7. Sage, L. Fungal flora and ochratoxin A production in grapes and musts from France / L. Sage et al. // J. Agric. Food Chem. — 2002. — 50. — P. 1306–1311.
8. Serra R. Isolation of filamentous fungi from grapes and study of ochratoxin A production in grape and must by indigenous *Aspergillus* / R. Serra et al. // Proceedings: Bioactive Fungal metabolites-impact and exploitation. — Swansea, U.K., 2001. — P. 93.
9. Storari M. Risk assessment of the occurrence of black aspergilla on grapes grown in an alpine region under a climate change scenario / M. Storari et al. // Eur J Plant Pathol. — 2012. — № 134. — P. 631–645.
10. Annemiek Schilder Management of bunch rot diseases in grapes [Электронный ресурс] / Plant Pathology, Michigan State University, 2008. — Режим доступа: [http://msue.anr.msu.edu/news/management_of_bunch_rot_diseases_in_grapes].
11. Гольшин, Н. М. Фунгициды в сельском хозяйстве / Н. М. Гольшин. — М.: Колос, 1970. — С. 161–177.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО МИКОЛОГИИ И ФИТОПАТОЛОГИИ В НОВО-АЛЕКСАНДРИЙСКОМ ИНСТИТУТЕ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ЛЕСОВОДСТВА

Гамалея В.Н., Рудая С.П.

Государственный университет инфраструктуры и технологий, Киев, Украина

Первые сведения о микологической флоре Украины появились в конце XVIII века в результате экспедиций, организованных Петербургской академией наук для изучения природных богатств малоисследованных регионов Российской империи. Систематическое ее изучение началось в XIX веке, после открытия Харьковского, Киевского и Новороссийского университетов. В конце XIX века исследования по микологии и родственной с ней дисциплине фитопатологии уже довольно успешно разрабатывались в стенах названных университетов, но некоторые аспекты этих дисциплин преподавались и изучались в специализированном высшем учебном заведении сельскохозяйственного профиля — Ново-Александрийском институте сельского хозяйства и лесоводства. Этот институт, основанный в 1816 году

под названием Маримонтский институт земледелия в предместье Варшавы Маримонте, стал первым в России и одним из первых в Европе сельскохозяйственным учебным заведением. В 1840 году, после присоединения к нему Варшавского лесного училища, он стал называться Маримонтский институт сельского хозяйства и лесоводства, который в 1862 году в связи с оживлением в Польше освободительного движения был переведен подальше от Варшавы, в Новую Александрию. Ко времени перевода в Новую Александрию учебного заведения она представляла собой небольшое поселение городского типа, и появление в ней института с пятью отделениями: гражданских инженеров, механическим, горным, сельскохозяйственным и лесным — было крупным событием в ее культурной жизни [1].

Очень важную роль в истории этого учебного заведения сыграли недолгие годы директорства В.В. Докучаева (1892–1895) [2]. Воспитанник института, впоследствии академик АН УССР и ВАСХНИЛ В.Я. Юрьев писал: «Василий Васильевич Докучаев Ново-Александровский институт превратил в крупное учебное заведение сельскохозяйственного профиля и фактически стал основоположником и родоначальником новой науки в земледелии — почвоведения» [3, с. 9]. На сельскохозяйственном отделении Ново-Александровского института сельского хозяйства и лесоводства совершенствовались старые и разрабатывались новые агротехнические приемы выращивания полевых, овощных и плодовых культур. Проводилось изучение биологических и физиологических особенностей растений в их взаимосвязи со средой. Создавались средства защиты от вредителей, болезней и сорняков. В первый период после его основания, с 1818 по 1871 гг., все сельскохозяйственные дисциплины преподавались на единой кафедре сельского хозяйства, но в 70-х гг. началось разделение ее на отдельные кафедры по различным дисциплинам, на которых стали проводиться специальные исследования, в частности по микологии и фитопатологии [4].

В 1903 г. адъюнкт-профессором кафедры ботаники был назначен выпускник Московского университета, в 1895–1903 гг. приват-доцент Киевского университета и ассистент С.Г. Навашина Николай Васильевич Цингер (1866–1923). При чтении курса ботаники он уделял много внимания микологии, особенно грибам-паразитам, вызывающим заболевания растений. Среди его учеников были будущие микологи и фитопатологи, в частности Г.С. Неволовский. По инициативе Н.В. Цингера в 1918 г. в институте были организованы обязательные практические занятия по микроскопическому исследованию грибов-паразитов, а с 1921 г. введен автономный курс лекций по фитопатологии.

Кафедру физиологии растений с основами учения о микроорганизмах в 1905 г. возглавил Владимир Степанович Буткевич (1872–1942). Исследования В.С. Буткевича были посвящены превращениям белковых веществ высших растений и плесневых грибов, а также распространению ферментов у растений. Им был разработан биологический метод определения характеристики грунтов, в частности их потребности в фосфоре и калии, с помощью грибных культур [5]. Это была первая попытка применения микробиологического метода для характеристики почв с точки зрения их обеспеченности питательными веществами. Сейчас этот метод с успехом применяется как у нас, так и за рубежом.

Вопросам, связанным с микологией и фитопатологией, уделяли внимание не только преподаватели кафедры ботаники и физиологии растений. Владимир Юльевич Бранке (1856–1913), адъюнкт-профессор кафедры лесоводства (1883–1905), значительную часть печатных трудов посвятил лесной фитопатологии, в частности грибным болезням древесных пород [6]. Изучая растительность Южного берега Крыма, он отметил наличие красной гнили крымской сосны над Алушкой и верхней Массандрой, вызванную грибами-трутовиками, и рекомендовал уничтожать пораженные деревья [7]. Серьезные выводы относительно грибных болезней деревьев были сделаны им во время экскурсии по лесам Кавказа:

«Важность присутствия древесных паразитов ...еще не вошла в число безусловных истин. Тогда как никто уже не сомневается в значении вредных лесных насекомых, ...нет уверенности в смысле вреда от паразитов. Отношение ущерба для лесов, который наносят им грибы, к вреду от насекомых, можно сравнить с отношением вреда для людей от таких острых заболеваний, как холера, — с вредом от чахотки, которая незаметно, но постоянно отнимает много жертв» [8, с. 108–109]. Однако, по его мнению, определенный прогресс в этом направлении уже намечен, поскольку «при современном состоянии растительной патологии Европейская Россия вообще достаточно исследована относительно важнейших паразитных болезней главных лесных древесных пород» [там же, с. 111]. В этой же работе В.Ю. Бранке приводит список важнейших для российского лесного хозяйства грибов-паразитов.

Вопросы теоретической и практической микологии и фитопатологии занимали определенное место как в исследованиях профессорско-преподавательского состава Ново-Александровского института сельского хозяйства и лесоводства, так и в его учебных программах [9], что позволило внести определенный вклад в становление и развитие этих направлений.

Список литературы

1. Рудая С.П. Ново-Александровский институт сельского хозяйства и лесоводства // Развитие биологии на Украине. В 3-х тт. Т. 1 / Отв. ред. Б. Г. Новиков. Киев: Наукова думка, 1894. С. 140–143.
2. Рудая С.П., Гамалея В.Н. Василий Васильевич Докучаев — директор Ново-Александровского института сельского хозяйства и лесоводства // История наук о Земле. Коллективная монография. — М., 2017. — С. 94–100.
3. Гур'єв Б. П., Манзюк В. Т., Черняк І. Й. Василь Якович Юр'єв. Київ: Наукова думка, 1979. 98 с.
4. Гамалея В.Н., Забуга О.Г. Формирование учебных программ Ново-Александровского института сельского хозяйства и лесоводства на рубеже XIX–XX вв. // Материалы Второй международной научно-практической конференции «Проблемы биологии, экологии, географии, образования: история и современность», 3–5 июня 2008 г. — СПб — С. 367–369.
5. Буткевич В.С. Культура плесневого гриба *Aspergillus niger* как способ исследования почв // Журнал опытной агрономии. — 1909. — Т. 10. — Кн. 1. — С. 136–141.
6. Бранке В.Ю. Развитие учения о важнейших для русского лесного хозяина гнилостных болезнях лесных пород и охрана леса от этих болезней // Записки Ново-Александровского ин-та сельского хоз-ва и лесоводства. — 1901. — Т. 14. — Вып. 2. — Варшава, 1901. — С. 113–128.
7. Бранке В. Древесная растительность южного берега Крыма // Там само. — 1895. — Т. 9. — Вып. 2. — С. 77–99.
8. Бранке В. Из экскурсии по лесам Кавказского берега Черного моря // Там само. — С. 101–112.
9. Гамалея В.М. Історія досліджень бактеріозів рослин в Україні (кінець XIX — початок XXI ст.) / Відп. ред. Ю.К. Дупленко. — К.: Фітосоціоцентр, 2009. — 328 с.

ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОАЛМАЗОВ И МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ *AVENA SATIVA*

Голованова Т.И., Иванова А.Н.

Сибирский федеральный университет, институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Красноярск

В последние годы возрос интерес к созданию интегрированной защитной системы растений, которая ориентирована на минимизированное применение химических средств защиты. В этом аспекте особое внимание заслуживает биологический контроль с использованием микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов. Они создают равновесную систему, обеспечивающую сохранение и воспроизводство растений и микробоценозов. Эпифитотийный взрыв грибных и бактериальных заболеваний приводит к нарушению гомеостаза, появлению новых фитопатогенов, обеднению микробоценозов вследствие резкого ухудшения экологической ситуации. Использование микроорганизмов-антагонистов по сравнению с химическими препаратами не нарушает экологическую обстановку и оказывает положительное влияние на растения, повышая их продуктивность. Одним из распространенных компонентов микрофлоры почвы являются грибы рода *Trichoderma*. Они занимают доминирующее место среди микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов. В процессе своей жизнедеятельности грибы рода *Trichoderma* способны продуцировать широкий спектр токсических веществ, обладающих антибиотическими свойствами. Многие из антибиотиков охарактеризованы по спектру действия и химическому составу, причем для некоторых из них отмечено отсутствие видовой специфики. Кроме биологически активных соединений грибы рода *Trichoderma* способны продуцировать в окружающую среду летучие органические вещества, обладающие антибиотическими и стимулирующими свойствами (Алимова, 2006, Максимов, Абизильдина, Пусенкова, 2011, Шарипова и др., 2013). Для связывания и нейтрализации токсических соединений интерес представляют также модифицированные наноалмазы (МНА) взрывного синтеза, полученные в ИБФ СО РАН. Для них характерна высокая коллоидная устойчивость, образование различных типов связи, в том числе S-S мостов, возможность создания более эффективных тест-систем. Они применимы для медико-биологических исследований. Физико-химические свойства данных нанокристаллических частиц определяют их высокие адсорбционные свойства к различным соединениям биологической и небиологической природы, включая токсические: микотоксины, ионы тяжелых металлов (Пузырь и др., 2004, Бондарь, Пузырь, 2004).

Цель исследования — оценить возможность комбинированного воздействия метаболитов грибов рода *Trichoderma* и модифицированных наноалмазов на ростовые процессы *Avena sativa*.

Для экспериментов использовали модифицированные наноалмазы (МНА) взрывного синтеза, обладающие высокой коллоидной стабильностью в дисперсионных средах (вода, органические растворители, масла) и применимые для медико-биологических исследований (Бондарь, Пузырь, 2004, Пузырь et al., 2007). МНА получены из взрывных наноалмазов российского производства (ООО «Реал-Дзержинск») способом, разработанным ранее в ИБФ СО РАН (Бондарь, Пузырь, 2004, Бондарь, Пузырь, 2005).

Фракцию МНА со средним размером кластеров наночастиц в гидрозоль $d_{50} = 70.6$ нм выделяли из исходной суспензии МНА с помощью ее дифференциального центрифугирования (Avanti J-E, Beckman Coulter, США). Распределение размеров кластеров МНА в гидрозоль оценивали с помощью Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Англия). Сухой порошок МНА получали высушиванием полученной фракции на роторном испарителе Rotavapor R-215 (Buchi, Швейцария). Гидрозоль МНА с концентрацией 3 масс.% получали добавлением деионизованной воды к навеске порошка наночастиц. Деионизованную воду получали с помощью Milli-Q system (Millipore, США) (Бондарь, Пузырь, 2004, Бондарь, Пузырь, 2005, Пузырь et al., 2007). Автор выражает благодарность В.С. Бондарю, заведующему лабораторией Нанобиотехнологии и Биоллюминесценции ИБФ СО РАН, за предоставление препарата МНА. Метаболиты *Trichoderma asperellum* MG-97 получали методом глубинного культивирования на среде Чапека.

Исследования проводили на проростках *Avena sativa*. Поверхность семян стерилизовали 0.5% раствором $KMnO_4$ в течение 10 минут, затем 8–10 раз промывали стерильной дистиллированной водой. Избыток влаги с поверхности семян удаляли фильтровальной бумагой. Семена проращивали рулонным методом (Бенкен, Хацкевич, 1980).

Пророщенные семена помещали на почвенный субстрат, который содержал: верховой и низовой торф, песок и доломитовую муку (pH 5.5–6.5; N — 30%; P — 30%; K — 40%). Выращивание проводили при естественном освещении (облученность на уровне посевов — 300 мкмоль фотонов/м²с), относительной влажности — 75±3% и температуре — 25±2°C. Полив осуществляли отстоянной водопроводной водой, поддерживая относительную влажность почвы на уровне 60%.

Контроль: семена растений проращивали в отсутствии метаболитов *T. asperellum* и частиц МНА. Опытные варианты: *Trichoderma* — семена проращивали в растворе метаболитов микромицета; МНА — семена проращивали в гидрозоль МНА (концентрация наночастиц — $2 \cdot 10^{-5}$ мг/мл); *Trichoderma*+МНА — семена проращивали в растворе, содержащем метаболиты микромицета и МНА.

Оптическую плотность фотосинтетических пигментов определяли с помощью спектрофотометра Specol-1300 (Germany). Концентрацию пигментов рассчитывали по (Wintermans, DeMots, 1965):

$$\begin{aligned} C_a &= 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,76 \times (D_{649} - D_{720}); \\ C_b &= 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720}); \\ C_{кар} &= ((D_{470} - D_{720}) - C_a \times 0,001666 - C_b \times 0,03315) / 0,21, \end{aligned}$$

Для измерения скорости фотосинтетического электронного транспорта (ETR) использовали флуориметр junior-PAM в режиме регистрации световой кривой фотосинтеза и индукционной кривой. Скорость фотосинтетического электронного транспорта рассчитывали по формуле:

$$ETR = I_{PAR} \times (ETR - Factor) \times Y(II),$$

где I_{PAR} — интенсивность света, ETR-Factor равен 0,84, отражает эффективность поглощения фотонов пигментами; $Y(II)$ — эффективность квантового выхода ФСII, $Y(II) = (F_M - F) / F_M$ (Genty et al., 1989). Световую кривую фотосинтеза регистрировали на приборе junior-РАМ в диапазоне от 0–500 мкмоль фотонов/(m^2c). Индукционную кривую рассчитывали при 420 мкмоль фотонов/(m^2c).

Для статистической обработки экспериментальных результатов использовали специализированный пакет программ Microsoft Excel 2007. Оценку достоверности различий средних проводили на основе критерия Стьюдента, при уровне вероятности не менее 95 %. Достоверность действия фактора проводили с использованием дисперсионного анализа.

Отмечено, что метаболиты *Trichoderma* оказывали стимулирующее действие на развитие надземной и корневой систем, на накопление сухой и сырой биомассы, что говорит о возможности участия метаболитов данного микромицета в регуляции ростовых процессов растений. Под действием метаболитов происходило увеличение фотосинтетических пигментов и изменение соотношения зеленых пигментов в сторону увеличения хлорофилла *b*. Наблюдалось положительное влияние на скорость электронного потока и квантовый выход, однако достоверных различий по отношению к контрольному варианту обнаружить не удалось. МНА оказывали стимулирующее влияние на все исследуемые морфологические и физиологические параметры *Avena sativa*. Наибольший положительный эффект получили при совместном действии модифицированных наноалмазов и метаболитов *Trichoderma* на физиолого-морфологические и биохимические параметры растений, под их влиянием происходило достоверное увеличение скорости электронного потока и квантового выхода.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что использование метаболитов *Trichoderma* с МНА оказывали положительное влияние на ростовые процессы растения, можно предположить, что МНА способствовали более эффективному вклю-

чению экзометаболических *Trichoderma asperellum* в метаболические процессы *Avena sativa*.

Список литературы

1. Алимova Ф.К. *Trichoderma* / *Hypocrea* (Fungi, Ascomycetes, Hypocreales): таксономия и распространение. Казань: УНИПРЕСС ДАС. 2006; 360.
2. Максимов И. В., Абизгильдина Р. Р., Пусенкова Л. И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов. Прикладная биохимия и микробиология. 2011; 47(4): 373–385.
3. Шарипова Д. А., Ветрова М. А., Масютин Я. А., Новиков А. А., Гуцин П. А., Винокуров В. А. Исследование антагонизма различных штаммов грибов рода *Trichoderma* и грибковых фитопатогенов. Башкирский химический журнал. 2013; 20(4): 83–85.
4. Пузырь А. П., Бондарь В. С., Селимханова З. Ю., Инжеваткин Е. В., Бортников Е. В. Результаты исследования возможного применения детонационных наноалмазов в качестве энтеросорбента. Сибирское медицинское обозрение. 2004; 2–3: 25–28.
5. Бондарь В.С., Пузырь А.П. Наноалмазы для биологических исследований. ФТТ. 2004; 46 (4): 698–701.
6. Puzyr A.P., Baron A.V., Purtov K.V., Bortnikov E. V., Skobelev N.N., Mogilnaya O.A., Bondar V.S. Nanodiamonds with novel properties: a biological study. Diam. Relat. Mater. 2007; 16: 2124–2128.
7. Пузырь А.П., Бондарь В.С. Способ получения наноалмазов взрывного синтеза с повышенной коллоидной устойчивостью. Пат. РФ № 2252192. Бюл. 2005; 14.
8. Бенкен А.А., Хацкевич Л.К. Оценка устойчивости растений к почвенным фитопатогенам. Микология и фитопатология. 1980; 14(6): 531–538.
9. Wintermans I.F., DeMots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. Biochim Biophys Acta. 1965; 109: 448–453.
10. Genty B, Briantais J-M and Baker NR. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochim Biophys Acta. 1989; 990; 87–92.

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПРЕПАРАТА АЛИРИН-Б В БОРЬБЕ С АЛЬТЕРНАРИОЗОМ ТОМАТА

Грошева Е.В., Маслова М.В., Будаговский А.В., Будаговская О.Н.
Мичуринский государственный аграрный университет

Представители рода *Alternaria* широко распространены в природе и встречаются повсеместно: в почве, на растительных остатках, в воздухе и т. д. Некоторые виды приобрели патогенные свойства и вызывают болезни многих сельскохозяйственных культур. Альтернариоз является одним из распространенных грибных заболеваний томата, который поражает все надземные органы растений (листья,

стебли, черешки листьев, плоды, плодоножки) [1,2].

Учитывая, что многократное использование химических фунгицидов приводит к увеличению остаточных количеств пестицидов в растениях и плодах, с целью минимизации данной нагрузки на агроценозы и в рамках развития органического земледелия актуально применение биологических средств защиты рас-

тений. Биопрепараты на основе бактерий и грибов-антагонистов позволяют снизить уровень развития и распространения фитопатогенных микроорганизмов [3, 4].

В борьбе с альтернариозом высокую эффективность показал препарат Алирин-Б, содержащий живые культуры *Vacillus subtilis* и относящийся к 4 группе опасности (малоопасный препарат). Для обработки растений производители (АгроБиоТехнология, Россия) рекомендуют применять рабочий раствор с концентрацией 0,06% (60 г на 1 га) [5].

Существенным недостатком биопрепаратов является то, что они имеют ограниченный срок действия и чувствительны к условиям транспортировки, хранения и применения [6].

Цель данного исследования — повышение эффективности биопрепарата Алирин-Б в борьбе с альтернариозом томата посредством лазерного облучения.

Исследования проведены на базе научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет».

Определение антагонистических свойств бактерии *V. subtilis* из Алирина-Б по отношению к патогенному грибу *Alternaria alternata* определяли путем посева суспензии клеток гриба на картофельно-глюкозную питательную среду, содержащую живые клетки биоагента в концентрации рабочего раствора. Чашки Петри выдерживали при температуре +22–24°C, после чего определяли объем грибных колоний.

Для изучения влияния лазерного облучения на *V. subtilis*, входящую в состав исследуемого биопрепарата, проводили облучение бактериальной суспензий с использованием гелий-неонового и полупроводникового лазеров с плотностью мощности — 2,0–2,5 Вт/м² при длительностях экспозиции 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960 с.

Подсчет числа колониеобразующих единиц (КОЕ) в облученном и необлученном препарате Алирин-Б проводили после воздействия квазимонохроматическим излучением с использованием полупроводникового лазера (длина волны 660 нм, плотность мощности 2,5 Вт/м²) в течение 480 с на рабочие растворы с концентрациями 0,25 г/л и 0,5 г/л, контролем служил вариант без облучения. После облучения растворы выдерживали 2 часа в термостате при температуре 37°C, затем проводили подсчет числа бактериальных клеток путем микроскопирования с использованием камеры Горяева с последующим пересчетом на 1 мл рабочего раствора.

Для обработки растений томата по зеленому листу и внесения под корень готовили рабочие растворы биопрепарата Алирин-Б с концентрацией — 0,25 г/л. Затем их подвергали воздействию квазимонохроматическим излучением с использованием полупроводникового лазера (длина волны 660 нм, плотность мощности 2,5 Вт/м²) в течение 60 с; 120 с; 240 с; 480 с, контролем служил вариант без облучения. Данные растворы применяли для обработки листьев растений томата — в первом варианте опыта, во втором — вносили в грунт под корень растений. Через 2-е суток делали микробиологический анализ смывов с поверхности листьев и суспензии грунта путем их посева на картофельно-глюкозную питательную среду с последующим учетом, идентификацией колоний микроорганизмов.

Плотность мощности квазимонохроматического излучения регистрировали с помощью высокоточного измерителя лазерного излучения VEGA Ophir (Израиль) и калориметрического измерителя ИМО-2Н («Эталон», Россия). Опыты проводились не менее чем в пятикратной повторности.

Серия экспериментов с биопрепаратом Алирин-Б показала, что в течение гарантийного срока хранения функциональная активность бактерий *V. subtilis*, входящих в состав биопрепарата, может существенно снижаться. Так, через 2 года хранения в кондиционных условиях (температура 7...10°С и влажность воздуха 60 %) число КОЕ уменьшилось на 28,9% относительно заявленных производителем показателей.

Исследование фунгицидного и фунгистатического действия биологического препарата защиты растений Алирин-Б в отношении грибов *A. alternata* показало снижение скорости роста их мицелия на твердых питательных средах с содержанием биоагента в концентрациях, рекомендуемых производителем. Под влиянием данного препарата объем биомассы гриба снизился по сравнению с контролем на 93,7% соответственно.

Достаточно высокая степень стимуляции жизнеспособности бактериальных клеток *V. subtilis* (45,9%) была выявлена при лазерном облучении препарата. Количество живых структур в рабочем растворе после облучения изменялось в зависимости от длительности экспозиции в пределах 9,8x10⁵–13,3x10⁵ соответственно, а в контроле составило 7,9x10⁵. Наиболее эффективным был вариант с облучением в течение 30 с, при котором наблюдалась максимальная стимуляция (68,3%).

С целью изучения влияния лазерного облучения на рост и развитие бактерии *V. subtilis* был взят рабочий раствор Алирина-Б в концентрации 0,25 г/л. Его обработка лазерным излучением в течении 480 с позволила повысить число бактериальных клеток через 2 часа на 50,7%. Облученная суспензия препарата с концентрацией 0,25 г/л была идентична суспензии с концентрацией 0,5 г/л без лазерной стимуляции. Данное обстоятельство явилось основанием для изучения эффективности биопрепарата Алирин-Б со сниженной концентрацией обработанного когерентным светом на горшечных растениях томата в условиях пленочной теплицы.

Число клеток *A. alternata* на 1 см² листовой поверхности при обработке Алирином-Б с концентрацией 0,25 г/л составило 45,6. В вариантах опыта, где применяли облученный препарат с той же концентрацией, данный показатель колебался от 22,1 до 35,3 в зависимости от параметров облучения, а в среднем составил 28,6 соответственно. В связи с выше изложенным, облучение рабочего раствора препарата Алирин-Б позволило повысить его антифунгальную активность в отношении гриба *A. alternata* на 22,6% соответственно.

Микробиологический анализ полученных суспензий грунта показал, что число КОЕ гриба *A. alternata* в опытных образцах был ниже на 43,8% по сравнению с контрольным значением. В варианте с применением лазерного облучения число КОЕ в 1 мл грунта варьировало в пределах от 0 до 120, что в среднем составило 52,5. В контрольном варианте было обнаружено 120 КОЕ.

Препарат Алирин-Б, хранившийся в течение 36 месяцев в упаковке с нарушенной герметичностью, без применения облучения оказался неэффективным

в борьбе с альтернариозом томата в условиях пленочной теплицы. Однако, его облучение способствовало проявлению антифунгальной активности бактерии *V. subtilis*, входящей в состав исследуемого препарата и, как следствие, уменьшению числа погибших растений на 25,5%, а также увеличению количества бессимптомных экземпляров на 12,7% по сравнению с вариантом без облучения.

Степень поражения растений альтернариозом отразилась на ростовой активности растений томата и их урожайности. При использовании облученного препарата Алирин-Б высота растений была выше на 47,8% по сравнению с вариантом без облучения. Обработка препарата Алирина-Б когерентным светом позволила достичь увеличения потенциальной урожайности на 60%.

Таким образом, лазерная обработка защитного биопрепарата Алирин-Б способна повысить его активность, после длительного или неправильного хранения. В основе стимуляционного эффекта лежит фоторегуляторное действие красного квазимонохроматического света [7]. При его кратковременном воздействии микробные клетки начинают быстрее размножаться, и становится допустимым снижение их концентрации в рабочих растворах. Это способствует экономии биопрепаратов при проведении мероприятий биологического контроля фитопатогенов. Технологии, основанные на установленном эффекте, могут быть востребованы в органическом земледелии для экологически безопасной защиты растений от болезней.

Список литературы

1. Ганнибал Ф.Д. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие. С.-Пб, 2011. 69 с.
2. Устойчивость возбудителей альтернариоза картофеля и томата к фунгицидам / М.А. Побединская, П.Н. Плуталов, С.С. Романова, Л.Ю. Кокаева, А.В. Николаев, А.В. Александрова, С.Н. Еланский // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. № 6. С. 401–408.
3. Болдырев М.И. Некоторые аспекты экологической проблемы в садоводстве // Садоводство и виноградарство. 1995. № 1. С. 4–8.
4. Белошапкина О.О., Вахших И.Н., Рябченко А.С. Влияние химических и биологических препаратов на *Venturia pyrina*- возбудителя парши груши // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49. Вып. 1. С. 48–53.
5. Штерншиц М.В., Беляев А.А., Цветкова В.П., Шпатова Т.В., Леляк А.А., Бахвалов С.А. Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus* для управления здоровьем растений: монография. Новосибирск, 2016. 284 с.
6. Маслова М.В., Грошева Е.В., Будаговский А.В., Будаговская О.Н. Применение лазерной обработки для повышения активности биопрепаратов // Защита и карантин растений. 2019. № 7. С. 15–17.
7. Способ восстановления активности защитных биопрепаратов после транспортировки, длительного или неправильного хранения: патент РФ №2683684; МПК7А01С1/00, А01N63/00, С12N1/20 / Будаговский А.В., Маслова М.В., Будаговская О.Н., Грошева Е.В., Будаговский И.А.; заявитель и патентообладатель Мичуринский государственный аграрный университет. №2018115374; заявл. 24.04.2018; опубл. 01.04.2019 // ФИПС. Бюл.№10. 7 с.

К ВОПРОСУ ПОИСКА И ИДЕНТИФИКАЦИИ ХИЩНЫХ ГРИБОВ ГИФОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ ЮЖНОГО КАЗАХСТАНА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКИХ НЕМАТОД

Каналбек Г.К., Акильбекова А., Фалеев Д.Г., Богуснаев К.К.
НИИ проблем экологии,

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Республика Казахстан, Алматы

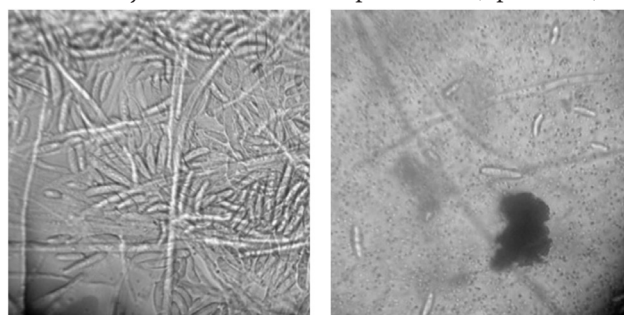
Фитопаразитические нематоды (фитогельминты) широко распространены в природе. Из 20 000 описанных видов нематод около 4 000 видов, связаны с растениями.

Не существует ни одного вида растений среди которых, как дикорастущие, так и сельскохозяйственные не были бы известны как хозяин одного вида (или более) паразитических нематод. Фитогельминты принадлежат к числу наиболее патогенных организмов, связанных с растениями. Несмотря на принимаемые меры борьбы с фитонематодами, проблема уменьшения причиняемого ими вреда продолжает оставаться злободневной. Общемировые ежегодные потери от этих паразитов исчисляются десятками миллиардов долларов США. Фитонематоды способны вызывать — эпифитототии — массовые поражения сельскохозяйственных культур [1].

Для контроля численности фитопаразитических нематод в сельском хозяйстве используют химические нематодциды, которые являются частью интегрированной системы защиты растений. Однако, защита растений от нематод по существу представляет собой проблему биологическую. Следовательно решение этой проблемы следует искать прежде всего на путях использования биологических методов: выведение сортов сельскохозяйственных культур, устойчивых к нематодам, применение высших растений в качестве приманок и антагонистов нематод, разработка методов использования хищных грибов-гельминтофагов [2], а также использования вермикомпоста [3]. Однако в Казахстане для борьбы с нематодами перечисленные биологические методы борьбы практически не применяются. Используют высокотоксичные химические препараты. Из перечисленных биологических средств борьбы с нематодами, на наш взгляд,

Таблица — Полученные почвенные микромицеты при выделении чистых культур хищных грибов

Место отбора	Семейство	Род	Вид
Жамбылская область, Чуйский район, село Оразалы (частный сад)	<i>Mucoraceae; Dematiaceae; Tuberculariaceae</i>	<i>Mucor; Alternaria; Phusarium</i>	<i>Mucor mucedo; Alternaria solani</i>
Жамбылская область, Чуйский район, село Оразалы (свекольное поле)	<i>Mucoraceae; Dematiaceae</i>	<i>Mucor; Alternaria</i>	<i>Mucor mucedo; Alternaria alternata</i>
Жамбылская область, Чуйский район, село Оразалы (свекольное поле)	<i>Mucoraceae; Dematiaceae; Orbiliaceas</i>	<i>Mucor; Alternaria; Dactylella</i>	<i>Mucor mucedo; Alternaria alternata; Dactylella heterospora</i>
Жамбылская область, Чуйский район, село Оразалы (свекольное поле)	<i>Mucoraceae; Dematiaceae; Tuberculariaceae; Orbiliaceas</i>	<i>Mucor; Alternaria; Pularium; Dactylella</i>	<i>Mucor mucedo; Alternaria solani; Dactylella gephyropaga</i>

Рисунок — Конидии хищных грибов рода *Dactylella*. Световой микроскоп ×40 (пробы 3,4)Проба 3
(*Dactylella heterospora*)Проба 4
(*Dactylella gephyropaga*)

наиболее перспективны методы использования хищных грибов-гельминтофагов с вермикомпостами. На основании этих методов возможно создание новых биопрепаратов для использования как в закрытых, так и открытых грунтах. Остальные биологические методы требуют кропотливой, длительной (10–15 лет) работы агрономов-селекционеров [4].

Нематофаговые гифомицеты (хищные грибы) в последние годы стали привлекать все возрастающее внимание исследователей как эффективное средство биологической борьбы с фитопаразитическими нематодами. В процессе эволюции хищные грибы выработали охотничьи приспособления для улавливания своих жертв — круглых червей (нематод). Эти грибы принадлежат к несовершенным грибам, порядку *Hyphales*, семейству *Mucedinaceae*. Наиболее распространенными и многочисленными, согласно данным по видовому составу, являются виды с сетчатыми ловушками, принадлежащие к роду *Arthrobotrys Corda emend Mecht*. Среди них по частоте находок выделяется *A. oligospora Fres.* [5].

Исследования хищных грибов гифомицетов в Казахстане выполняются впервые. В наших опытах по выделению штаммов хищных грибов и культур фитопаразитических нематод использовали пробы почв, отобранные в различных точках Южного Казахстана (природные, сельскохозяйственные экосистемы). В таблице приведены только обработанные источники.

Проведенные исследования почвенных проб позволили выделить следующие роды микромицетов — *Mucor, Alternaria, Phusarium, Lipomyces*. В частности хищные грибы относятся к роду *Dactylella* (*Dactylella heterospora* (?) и *Dactylella gephyropaga* (?), семейства *Orbiliaceas*.

Выделение и культивирование хищных грибов проводили по методу описанному Ф.Ф. Сопруновым [6]. В результате были выделены штаммы хищных грибов (пробы 3,4), предположительно *Dactylella gephyropaga*, *Dactylella heterospora*. (рисунок).

Основной целью нашей работы было проведение отбора наиболее эффективных штаммов, перспективных в качестве продуцентов биопрепарата для борьбы с фитопаразитическими нематодами. Критерием оценки выделенных штаммов будет служить нематофаговый эффект на тест-объекте, нематоде-микробофаге *Panagrellus redivivus*, а также характер и скорость роста на агаризованных питательных средах, интенсивность и тип спороношения, наличие спонтанно формирующихся ловушек (без присутствия нематод).

Список литературы

1. Прикладная нематодология/ Н.Н. Буторина, С.В. Зиновьева, О.А. Кулинич и др.; Ин-т паразитологии РАН. — М.: Наука, 2006. — 350 с.
2. Теплякова Т.В. Биоэкологические аспекты изучения и использования хищных грибов-гифомицетов. — Новосибирск, 1999. — 252 с.
3. Georges J.B., Lavelleb R.P., Chabannec A. Interactions between earthworms and plant-parasitic nematodes // European Journal of Soil Biology. — 2013. — Vol. 59. — P. 43–47.
4. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: Под ред. В.С. Шевелуха. — М.: ЛЕНАНД, 2015. — 704 с.
5. Ананько Г.Г., Теплякова Т.В. Хищные грибы-гифомицеты против паразитических нематод // Защита и карантин растений. 2009. № 6. С. 22–25.
6. Сопрунов Ф.Ф. Хищные грибы-гифомицеты и их применение в борьбе с патогенными нематодами. — Ашхабад: Изд-во АН Туркм. ССР, 1958. — 366 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ЯЧМЕНЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ *COCHLIOBOLUS SATIVUS* ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ

Колоколова Н.Н.¹, Боме Н.А.¹, Тетяников Н.В.², Вайсфельд Л.И.³

¹«Тюменский государственный университет»

²«Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства», Москва

³Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской Академии наук, Москва

Фитопатогенные грибы *Cochliobolus sativus* (Ito et Kurib.) Drechsler ex Dastur.) — возбудители темно-бурой пятнистости ячменя, характеризующиеся высокой изменчивостью по признаку вирулентности, имеют широкое распространение в различных агроэкологических зонах.

При оценке селекционного материала ячменя и выявления форм, устойчивых к патогенам, предпочтительно использовать наиболее информативные критерии о структурно-функциональном состоянии растений. По нашим данным, об изменении метаболических процессов можно судить по содержанию хлорофилла в пораженных и здоровых листьях растений.

На первом этапе (2012–2013 гг.) было исследовано 102 образца ячменя из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), различающихся по происхождению и относящихся к 9 ботаническим разновидностям. Полевое испытание проведено на экспериментальном участке биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак» (Нижнетавдинский район, Тюменская область). Почва участка окультуренная дерново-подзолистая, супесчанная по гранулометрическому составу. Содержание хлорофилла в листьях было определено методом абсорбционной спектроскопии («Сресоле», длина волны 662, 644, 440 нм). Пробы растений отбирались в период максимального развития болезни — колошение-молочная спелость.

Выявлена неоднозначная реакция генотипов на воздействие фитопатогена. Концентрация хлорофиллов (*a* и *b*) в клетках пораженных листьев у образцов с очень низкой устойчивостью к темно-бурой пятнистости была достоверно ниже по сравнению со здоровыми. Например, у образца Местный (var. *pallidum*, Таджикистан, к-14949) концентрация хлорофилла *a* составила (мг/л): в здоровых листьях 13,75, листьях со слабой степенью поражения 11,04, сильной 8,20; хлорофилла *b* — 5,01; 3,98; 2,62 соответственно.

У образцов со слабой восприимчивостью к патогену не выявлено достоверных различий по содержанию хлорофиллов *a* и *b* в контрольных и с разной степенью поражения листьях. Следует отметить, что эта группа образцов отличалась более высоким содержанием хлорофилла *a*. У сорта Кедр (var. *nutans*, Красноярский край), взятого в коллекционном питомнике в качестве стандарта, концентрация хлорофилла *a* изменялась в опыте от 16,01 до 17,29 мг/л.

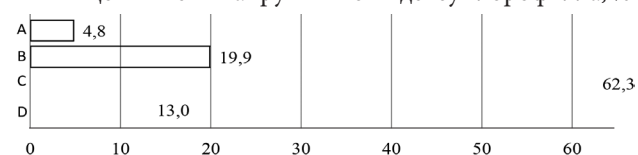
Выявленные нами различия в содержании хлорофилла между контрольными и зараженными листьями указывают на изменение метаболизма и синтеза пигментов в клетках. Это позволяет рассматривать данный показатель как маркер физиологического статуса растений. Вместе с тем, лабораторный метод определения содержания хлорофилла трудоемок и требует изъятия растений из агроценоза.

Экспресс-диагностику в полевых условиях неdestructивным методом можно проводить с помощью оптического счетчика хлорофилла SPAD 502 Plus (Minolta Camera Co, Ltd, Токио, Япония) [1–3].

На втором этапе (2015–2017 гг.) было изучено 146 коллекционных образцов ячменя, представленных 40 ботаническими разновидностями. Сравнительный анализ выявил различия по содержанию хлорофилла в листьях. Среднее значение признака по образцам составило 38,2 ед. spad при варьировании от 26,3 (Comfort f8, к-24678, var. *breviaristatum*, США) до 54,8 ед. spad (С.И. 11086, к-30666, var. *pyramidatum*, Перу). У сортов, районированных в Тюменской области (Ача и Абалак) содержание хлорофилла превышало среднее значение по коллекции (46,0 и 41,0 ед. spad соответственно).

Расчет индекса хлорофилла (отношение spad к площади флаг-листа) позволил распределить коллекционный материал на четыре группы: >3,0 низкий (19 образцов); 3,1–7,0 средний (91 образец); 7,1–10,0 высокий (29 образцов); <10,1 очень высокий (7 образцов) (рисунк).

Рисунок. Распределение коллекционных образцов ячменя на группы по индексу хлорофилла, %



Примечание: A — <10,1 очень высокий; B — 7,1–10,0 высокий; C — 3,1–7,0 средний; D — >3,0 низкий.

За период исследования выделены образцы со стабильной устойчивостью к темно-бурой пятнистости: С.И. 11086 (к-30666, var. *pyramidatum*), С.И. 11061 (к-30656, var. *schimperianum*) — Перу, Целинный 5 (к-001, var. *medicum*) — Казахстан, Местный (к-30367, var. *pallidum*) — Сирия, Днепропетровский 425 (к-22050, var. *nutans*) — Украина, которые характеризовались высоким индексом хлорофилла (3,9–12,5). Содержание хлорофилла в листьях данных образцов находилось в пределах от 35,6±1,27 до 54,8±0,80 ед. spad., степень изменчивости признака — от слабой до средней (CV=8,80–12,25%).

По мнению ряда авторов [4–6], для отбора генотипов, толерантных к биотическим и абиотическим факторам эффективно использование показателя накопления хлорофилла в растениях в период вегетации.

Нами получены (2016–2018 гг.) положительные результаты при отборе селекционно-ценных форм ячменя из мутантных популяций, созданных на основе образцов: Зерноградский 813 (к-30453, Россия, var. *erectum*), Dz02–129 (к-22934, Эфиопия var. *nigripallidum*), С.И. 10995 (к-30630, Перу var. *sinicum*) с использованием нового химического мутагена фосфемид. Данные по динамике накопления и деградаци хлоро-

филла на разных этапах онтогенеза растений в третьем поколении (M_3), могут быть использованы при подборе оптимальных концентраций раствора мутагена для обработки семян и получения широкого спектра полезных мутаций.

Измерение содержания хлорофилла в разные фенологические фазы (кущение, выход в трубку, колошение, молочная спелость, восковая спелость, полная спелость) с использованием SPAD 502 показало, что влияние фосфемида проявилось в ускорении деградации пигмента в период формирования и созревания зерна. Выявленные различия связаны с признаками продуктивности и качества зерна. Обработка семян фосфемидом не оказала отрицательного влияния на восприимчивость растений к возбудителю темно-бурой пятнистости.

Таким образом, показания SPAD 502, позволяющие выявить различия по содержанию хлорофилла в клетках растений, могут быть использованы для быстрого неинвазивного обнаружения и отбора устойчивых к *Cochliobolus sativus* растений в полевых условиях.

Список литературы

1. Buschmann, C. Excitation kinetics of chlorophyll fluorescence during light-induced greening and establishment of photosynthetic activity of barley seedlings / C. Buschmann, S. Konanz, M. Zhou, S. Lenk, L. Kocsányi, A. Barócsi / *Photosynthetica*. — 2013. — №51 (2) — P. 221–230.
2. Zhu, J. Comparing SPAD and atLEAF values for chlorophyll assessment in crop species / J. Zhu, N. Tremblay, Y. Liang // *Canadian Journal of Soil Science*. — №92 (4). — P. 645–648.
3. Kendal, E. Relationship between Chlorophyll and other Features in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) Using SPAD and Biplot Analyses / E. Kendal // *Journal of Agricultural Science and Technology*. — 2015. — №17 (6). — P. 1873–1886.
4. Wiesler, F. The crop as indicator for sidedress nitrogen demand in sugar beet production limitations and perspectives / F. Wiesler, M. Bauer, M. Kamh, T. Engels, S. Reusch // *J. Plant Nutr. Soil Sci.* — 2002. — №165. — P. 93–99.
5. Wang, Q. Nondestructive and rapid estimation of leaf chlorophyll and nitrogen status of peace lily using chlorophyll meter / Q. Wang, J. Chen, Y. Li. // *J. Plant Nutr.* — 2004. — №27. — P. 557–569.
6. Uddling, J. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings / J. Uddling, J. Gelang-Alfredson, K. Piikki, H. Pleijel // *Photosynth. Res.* — 2007. — №91. — P. 37–46.

ПЕРОНОСПОРОЗ ЯРОВОГО РАПСА В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗЬ С ПОГОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИМИ УСЛОВИЯМИ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА

Коробейников А.С.

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологии РАН, сектор иммунитета и защиты растений

Яровой рапс представляет собой современную многоцелевую культуру, задействованную во многих отраслях современного сельскохозяйственного производства и промышленности [1]. Несмотря на это, на данный момент в России данная культура не получила столь широкого распространения. Вместе с тем, кормовые сорта рапса постепенно получают признание в качестве источников зеленого корма для сельскохозяйственных животных. Растущие потребности фермерских хозяйств в новой культуре обуславливают необходимость в новых сортах, устойчивых к комплексу заболеваний и адаптированных к условиям конкретного региона.

Целью работы было исследование распространенности и развития пероноспороза в посевах ярового рапса в разные годы, а также определение зависимости основных показателей фитосанитарного состояния от погодно-климатических условий различных вегетационных периодов.

В условиях Западной Сибири для ярового рапса наиболее типичным является поражение комплексом грибных фитопатогенов, вызывающих листовые инфекции, а также поражающие стручки, среди которых основное место занимает пероноспороз [2]. Вирусные и микоплазменные инфекции на этой культуре встречаются нечасто и связаны с уровнем рас-

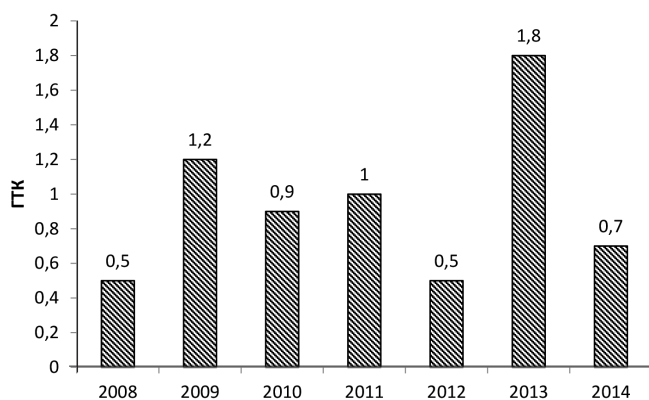
пространения сосущих вредителей (капустная тля и цикадки).

В исследованиях фитосанитарного состояния на посевах ярового рапса был задействован питомник сравнительного сортоиспытания (7 сортов, включая 2 стандартных). Разнообразие сортов дает наиболее полную картину заболеваемости, а также позволяет выделить наиболее устойчивые и восприимчивые сорта. Исследования проводились в течение 7 лет, с 2008 по 2014 годы.

Пероноспороз, вызываемый облигатным патогенным грибом *Hyaloperonospora parasitica*, на яровом рапсе проявляется в виде пятнистости листьев нижнего и среднего ярусов. Развитие заболевания наиболее интенсивно наблюдается в условиях влажного и тепло-го климата [3].

Погодные условия в течение всех лет исследований существенно отличались. Годы 2008, 2012 и 2014 отличались относительно засушливыми условиями. В 2013 году наблюдались интенсивные осадки во второй половине июля — августа в сочетании с низкими температурами этого периода. Умеренным увлажнением вегетационного периода характеризовались годы 2009 и 2011 (рисунок). Поскольку развитие комплекса грибных инфекций на яровом рапсе зависит от погодных условий вегетационного периода, наряду с общими ко-

Рисунок — Показатели гидротермического коэффициента Селянинова по годам исследования



личественными показателями поражаемости посевов (распространенность заболевания и индекс развития болезни) был выполнен корреляционный анализ зависимости этих показателей от гидротермического коэффициента Селянинова.

Данные по распространенности пероноспороза по годам различались не очень сильно. Исключение составил 2012 год, когда интенсивное заселение растений вредителями, высокая засоренность поля сорными растениями, а также общее угнетенное состояние растений ярового рапса обеспечили практически полное отсутствие листостебельных инфекций, за исключением единичных случаев поражения (табл. 1).

По результатам семи лет исследований наблюдается статистически достоверная высокая устойчивость к

Таблица 1 — Распространенность пероноспороза в питомнике сравнительного сортоиспытания ярового рапса в 2008–2014 гг.

Сорт	Год исследований, распространенность, %						
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
СибНИИК 198	94,7	100	81,7	100	0	100	94
СибНИИК 21	31,3*	69*	53,3*	55*	0	54,4*	89
Дубравинский скороспелый	77,3	79	100	97	0	81	91
АНИИЗИС 1	21,3*	92	71,7	69*	0	43,3*	79*
АНИИЗИС 2	58,7	89	58,3	80	0	73,1	84*
АНИИСХ 4	49,3*	100	63,3	71*	0	58,5*	90
Надежный 92	88	85	73,3	58*	0	63,2*	89
НСР ₀₅	40,04	28,65	25,55	21,3	-	35,2	9,5

Примечания к табл. 1–2* — статистически достоверные данные

Таблица 2 — Развитие пероноспороза в питомнике сравнительного сортоиспытания ярового рапса в 2008–2014 гг.

Сорт	Год исследований, ИРБ, %						
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
СибНИИК 198	30,4	65,6	28,3	40,2	0	36,9	40,4
СибНИИК 21	4,5*	19,8*	8,7*	11,2*	0	12,5*	36,8
Дубравинский скороспелый	18,7	41,8*	32	30,4*	0	6,1*	47,2
АНИИЗИС 1	4,3	34,6*	18,3*	24,6*	0	19,6*	23,8*
АНИИЗИС 2	14,4	34,4*	13,7*	23,2*	0	27,6*	27,8*
АНИИСХ 4	10,7	44,4*	18,3*	20*	0	21*	33,6
Надежный 92	30,4	34,6*	20,7	21,6*	0	16,9*	44
НСР ₀₅	16,61	17,09	8,95	7,27	-	10,2	9,3

Таблица 3 — Корреляционная зависимость между гидротермическим коэффициентом Селянинова, распространенностью и развитием пероноспороза

Сорт	Корреляционная зависимость	
	ГТК / распространенность	ГТК / ИРБ
СибНИИК 198	+0,38	+0,49
СибНИИК 21	+0,37	+0,16
Дубравинский скороспелый	+0,36	-0,07
АНИИЗИС 1	+0,36	+0,56
АНИИЗИС 2	+0,49	+0,63
АНИИСХ 4	+0,38	+0,42
Надежный 92	+0,18	-0,01

пероноспорозу у сортов СибНИИК 21, АНИИЗИС 1 и АНИИСХ 4.

Развитие пероноспороза в разные годы исследований отличалось. 2009 год отмечен выраженной эпифитотией с поражением стандартного сорта СибНИИК 198 на уровне 4 баллов. В 2008, 2010 и 2013 годах развитие заболевания было умеренным, 2012 год отмечен практически полным его отсутствием (табл. 2).

В отношении устойчивости к пероноспорозу высокие результаты были получены у сортов СибНИИК 21, АНИИЗИС 1 и АНИИЗИС 2.

Расчет корреляции между гидротермическим коэффициентом Селянинова и основными показателями поражаемости растений пероноспорозом позволит выявить существование их зависимости от температуры и увлажненности вегетационного периода (табл. 3)

По результатам расчетов получены данные, свидетельствующие о наличии зависимости распространенности и развития пероноспороза от погодно-климатических условий вегетационного периода.

Исключение составляют сорта Дубравинский скороспелый и Надежный 92 — однако, в данном случае возможно наличие других факторов, влияющих на распространенность и развитие заболевания, в том числе сортовых признаков и наличия элементов питания в почве.

Список литературы

1. Осипова Г. М. Рапс в Сибири (Морфобиологические, генетические и селекционные аспекты) / РАСХН. Сиб. отд. СибНИИ кормов. — Новосибирск, 1998. — 168 с.;
2. Методические указания по выявлению и учету основных болезней сельскохозяйственных культур. — М.: Колос, 1975;
3. Ашмарина Л. Ф. Атлас болезней кормовых культур в Западной Сибири / Л. Ф. Ашмарина, И. М. Горобей, Н. М. Коняева, З. В. Агаркова // Рос. акад. с.-х. наук. Сиб. регион. отд., Сиб. науч.-исслед ин-т кормов. — Новосибирск, 2010. — 180 с.

КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ГРИБОВ *FUSARIUM SPP.* НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ТОМАТА

Луцашук Г.А., Михня Н.И., Гавзер С.И.

Институт генетики, физиологии и защиты растений, Кишинев, Республика Молдова

Корневые гнили томата проявляются на разных этапах онтогенеза в виде гниения семян, побурения или загнивания зародышевого корешка, корневой системы, основания стебля, ослабления и увядания растений. Комплекс грибов, участвующих в патогенезе, довольно сложный и лабильный, зависящий от множества факторов, и, в первую очередь, от температуры, влажности почвы и воздуха, чувствительности растения хозяина (Singh et al., 2017). В условиях Республики Молдова болезнь вызвана в основном грибами рода *Fusarium*. Наши исследования показали, что виды *F. oxysporum*, *F. solani* и *F. gibbosum* выделяются с наибольшей частотой из ювенильных растений томата с признаками побурения, некротических пятен на корнях или прикорневой части стебля (Луцашук, Ротару, Михня, 2008).

Цель работы — выявление специфичности действия культуральных фильтратов (КФ) изолятов разных видов *Fusarium* на всхожесть семян томата.

Материалом для исследований послужили 5 генотипов томата — сорта *Mihaela*, *Merisor* и линии L 120, L 121 и L 122 с хорошими хозяйственно-ценными признаками. Были использованы культуральные фильтраты 6-ти изолятов грибов *F. oxysporum*, 6-ти — *F. solani* и 4-х *F. gibbosum* — видов, наиболее часто выделяемых из корней больных растений томата в наших условиях. КФ были приготовлены на основе жидкой среды Чапека. Семена обрабатывали КФ в течение 18 час., после чего их трижды ополаскивали дистиллированной водой и помещали на увлажненную бумагу в чашки Петри. Контролем служили растения, выращенные из семян, замоченных в дистиллированной воде. Растения

выращивали в течение 6 дней при 2 температурных режимах: I — постоянная температура 23–24 °С и II — чередование температур 23–24/10–11/23–24 °С, по 2 дня каждая. Статистическая обработка данных была проведена в пакете программ Statistica 8.

Результаты показали, что в I случае почти во всех вариантах культуральные фильтраты гриба *F. oxysporum* вызвали ингибирование всхожести семян томата, наиболее выраженное у сорта *Merisor* (–20,2% по сравнению с контролем) и линий L 120 (–25,5 ... –25,8%), L 121 (–34,0 ... 37,6%). Отметим, что все изученные изоляты стимулировали всхожесть у линии L 122, варьирующую в пределах 8,1 ... 24,6%. Во II случае отмечено более выраженное ингибирование всхожести в случае сорта *Merisor* — на 21,7% и 36,7% при КФ 4 и КФ 6, L 120 — на 33,3% при КФ 6, L 122 — на 25% при КФ 6. Отметим, что КФ 6, вызвавший сильное ингибирование при I температурном режиме только у L 121 (–30,0%), при II оказал ингибирующее действие у 4-х генотипов (–25,0 ... –88,4%).

Установлено менее выраженное подавление всхожести в случае гриба *F. solani* по сравнению с *F. oxysporum* как в I, так во II варианте. Наиболее существенное ингибирование в I случае отмечено у линии L 121 при КФ 2 и КФ 3 — на 6,7% и у L 122 — при КФ 2, КФ 6 и КФ 7: на 4,3 ... 6,3%. В случае II ингибирование всхожести выявлено только у генотипа L 122 при обработке зерен КФ 3 — на 5%.

F. gibbosum считается слабопатогенным видом. В нашем случае используемые изоляты вызвали подавление всхожести при I температурном режиме у сорта *Mihaela* на 6,7% при КФ 2 и КФ 3 и у L 122 — на 4,3% под

влиянием КФ 4, тогда как при II отмечено подавление всхожести только у сорта Mihaela — на 6,6% (КФ 5).

Кластерным анализом изученных изолятов на базе их действия на всхожесть 5 генотипов томата выявлено, что в I случае межкластерная вариация (102,25 ... 3155,56) была выше внутрикластерной (132,29 ... 423,65) для 3 генотипов — Merisor, L 120, L 121. Это свидетельствует о том, что в данном случае изоляты проявили выраженную дифференциацию по патогенности. При II температурном режиме отмечена более высокая амплитуда межкластерной (7291,74 ... 19777,39) и внутрикластерной (143,61 ... 1224,30) дисперсий по сравнению с I, что указывает на более специфичное взаимодействие *x* изолята при чередовании оптимальной и неблагоприятной температуры.

Выделенные нами изоляты со способностью ингибировать всхожесть семян и хорошо дифференци-

ровать генотипы могут быть использованы для скрининга генотипов томата на устойчивость к грибам *Fusarium* на этапе инициации роста и развития растений.

Список литературы

1. Singh B.K., Singh V.P., Srivastava S., Pandey A.K., Shukla D.N. Influence of Soil Properties on Wilt Incidence of Water Melon, Tomato and Marigold // Annual Research & Review in Biology, 2017, 19, (5), p. 1–6.
2. Лупашку Г.А., Ротару Л.И., Михня Н.И. Генетические эффекты, участвующие в реакции томата на грибы рода *Fusarium* Link. // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур (Традиции и перспективы). I Межд. научн.-практич. конф. (4–6 августа 2008 года). Том 2, М., 2008, С. 160–162.

ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Лунашку Г.А., Гавзер С.И.

Институт генетики, физиологии и защиты растений, Кишинев, Республика Молдова

Корневые гнили — одна из наиболее распространенных и вредоносных болезней зерновых колосовых культур, в том числе озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) во всем мире, в том числе и в Республике Молдова. Болезнь вызывает гниение корневой системы, основания стебля, ослабевание и увядание растений, тем самым способствуя значительным потерям урожая (Kiesana et al., 2016). Лимитирующие условия среды, особенно засуха, отмеченные часто в последнее десятилетие, благоприятствуют усилению вредоносности и распространению болезни на больших площадях (Caruso et al., 2007).

Корневые гнили считаются комплексным заболеванием, так как вызываются многочисленными видами грибов, частота и патогенность которых постоянно меняются под влиянием факторов среды — уровня температуры, влажности, кислотности почвы, а также степени восприимчивости сортов, этапа развития растений и агротехнических условий. В последнее время указывается на большую роль концентрации CO₂ в атмосфере.

Выявление видового состава грибов — возбудителей болезней растений, имеет большое значение для разработки эффективных мер защиты и служит методическим обоснованием для систем скрининга устойчивости культур к патогенам.

В связи с комплексностью факторов, от которых зависит указанное заболевание, цель настоящих исследований заключалась в выявлении видового состава грибов, вызывающих гнили подземной части и основания стебля растений, на разных этапах онтогенеза.

Изоляцию грибов из растений с симптомами болезни проводили на питательной среде *Potatoe Dextrosus Agar*, а их идентификацию — на базе макро- и микроскопических анализов согласно Билай (1977).

Индексы разнообразия и доминантности грибов определили согласно формулам Margalef [Margalef,

1968] и Berger-Parker [Caruso et al., 2007] соответственно.

На этапе удлинения стебля (апрель) на корнях растений пшеницы были отмечены слабые симптомы побурения ткани. Из 10 образцов выделены 29 изолятов, представляющих следующие виды грибов: *Fusarium solani* (51,7%), *F. gibbosum* var. *bullatum* (3%), *Cladosporium herbarum* (6,9%), *Drechslera sorokiniana* (17,2%), *Alternaria alternata* (10,4%), *Nigrospora maydis* (3,5%).

По мере роста и развития растений побуревшие пятна стали превращаться в некрозы. На этапе молочно-восковой спелости на базе 188 выделенных изолятов грибов, в основном из прикорневой части стебля, определили следующий видовой состав возбудителей болезни: *F. avenaceum* (2,1%), *F. oxysporum* var. *orthoceras* (3,7%), *F. solani* (4,8%), *F. sporotrichiella* var. *tricinatum* (2,1%), *F. gibbosum* var. *bullatum* (2,1%), *F. semitectum* (1,1%), *F. aquaeductum* (1,6%), *C. herbarum* (0,5%), *D. sorokiniana* (16,5%), *A. alternata* (52,1%), *N. maydis* (10,1%), а на этапе полной спелости — *F. avenaceum* (3,3%), *F. oxysporum* var. *orthoceras* (17,8%), *F. solani* (5,1%), *F. gibbosum* var. *bullatum* (8,4%), *F. semitectum* (0,9%), *F. aquaeductum* (1,4%), *C. herbarum* (0,5%), *D. sorokiniana* (38,3%), *D. avenae* (8,4%), *A. alternata* (12,2%), *A. consortiale* (2,8%), *A. radicina* (0,9%).

Было установлено, что индекс разнообразия составляет 1,49; 2,10 и 2,05, а индекс доминантности — 0,52; 0,52 и 0,38 соответственно первому, второму и третьему этапам развития растений.

Отметим, что на этапе удлинения стебля в составе грибов доминировал *F. solani*, на этапе молочно-восковой спелости — *A. alternata*, а на этапе полной спелости — *D. sorokiniana*. Следовательно, онтогенетический этап растений в значительной степени влияет на разнообразие и доминантность грибов — возбудителей корневых гнилей пшеницы, что свидетельствует о высокой

их лабильности при изменении пищевого субстрата растения хозяина.

Список литературы

1. Caruso T., Pigno G., Bernini F. et al. The Berger-Parker index as an effective tool for monitoring the biodiversity of disturbed soils: A case study on Mediterranean oribatid (Acari: Oribatida) assemblages. In: Biodiversity and Conservation, 2007, 16, p. 3277–3285.
2. Kiecana I., Cegiełko M., Rachoń L. et al. The occurrence of fungi on roots and stem bases of *Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. Thell. grown under two levels of chemical protection and harmfulness of *Fusarium graminearum* Schwabe to seedlings of selected genotypes. In: Acta Agrobot., 2016, 69(3), p. 1657.
3. Margalef R. Perspectives in Ecological Theory. University of Chicago Press, Chicago, IL, 1968, p. 111.
4. Билай В.И. Фузариоз. Киев: Наукова думка, 1977. 422 с.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД В БОРЬБЕ С ФУЗАРИОЗОМ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

Маслова М.В., Грошева Е.В.

Мичуринский государственный аграрный университет

Широкое распространение и развитие фузариозов овощных культур наносит огромный экономический ущерб сельскому хозяйству [1,2]. Грибы рода *Fusarium*, вызывая корневые гнили и трахеомикозное увядание, не только снижают урожайность, но и являются причиной гибели отдельных органов или целого растения [3].

В существующей системе защиты овощных растений от болезней доминирует химический метод. Данный подход не только не решает существующих проблем, но и способствует возникновению новых, связанных с ухудшением экологической обстановки. Система защиты растений, включающая элементы интеграции, позволит повысить эффективность существующих приемов борьбы с фитопатогенами, получить стабильные урожаи высокого качества, а также улучшить фитосанитарное и экологическое состояние агроценозов.

Применение комплекса мероприятий по защите растений, соответствующих требованиям органического земледелия, предотвратит распространение хозяйственно значимых вредоносных организмов, не нарушая биологического равновесия в природной среде. В связи с этим, вопрос разработки интегрированных мер борьбы с болезнями растений в рамках органического земледелия является актуальным, а его решение требует привлечения современных подходов и методов.

Данная работа проводилась на базе научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» и учебно-исследовательского тепличного комплекса ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ.

Определение антагонистических свойств агентов биологического контроля по отношению к фитопатогену проводили методом совместного культивирования на картофельно-глюкозной питательной среде бактерий из защитных биопрепаратов (Гамаир, Алирин-Б, Пралин, Витаплан, Фитоспорин -М) и гриба *Fusarium oxysporum* (Schlecht) Snyd. et Hans.

Влияние биопрепарата Гамаир на развитие проростков огурца, инфицированных патогенным грибом *F. oxysporum*, определяли по состоянию проростков и длине их гипокотыля после инкубирования в рабочем растворе исследуемого препарата.

Воздействие лазерного облучения на состояние проростков огурца *in vitro* в присутствии токсических метаболитов гриба *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wr. оценивали по интенсивности корнеобразования. Для проращивания семян использовали минеральную основу питательной среды MS [4] с добавлением 30 г/л сахарозы, 100 мг/л мезоинозитола, 7 г/л агары, 0,5 мг/л и 0,1 мг/л ИУК. В опытных вариантах в среду добавляли стерильный бесклеточный фильтрат культуральной жидкости (ФКЖ) *F. solani* в концентрации 20 %. Облучение семян проводили с использованием лазерной установки ГН — 40 (длина волны 632,8 нм, плотность мощности — 2 Вт/м², экспозиция облучения — 60с) через три часа после высадки семян на питательную среду.

Оценку влияния лазерного облучения на развитие фузариоза на плодах огурца проводили визуально. Плоды огурца с симптомами болезни на начальной стадии подвергали облучению на лазерной установке ГН — 40, плотность мощности — 2 Вт/м², длительность экспозиции — 960 с. Интенсивность развития болезни определяли визуально по площади поверхности плода, охваченной поражением, выраженной в процентах.

Влияния когерентного света на бактерии, входящие в состав биопрепаратов, определяли по изменению числа колониеобразующих единиц (КОЕ) в суспензии. В эксперименте использовали гелий-неоновый и полупроводниковый лазеры с длиной волны 632,8 нм и 661,0 нм соответственно и плотностью мощности — 2,0–2,5 Вт/м², длительность экспозиции 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960 с.

Эффективность облученных биопрепаратов Алирин-Б и Гамаир оценивали по снижению инфекционного фона в условиях защищенного грунта после их внесения под корень растений огурца. В контрольном варианте использовали данные препараты без обработки когерентным светом. На 3 сутки путем микроскопирования суспензии грунта с помощью камеры Горяева определяли число конидий гриба *Fusarium* с последующим пересчетом полученных данных на 1 см³ грунта.

Активность дезинфектанта *Intra Hydrocare* в отношении *F. oxysporum* определяли на основе выявления чувствительности к испытуемому препарату чистой

культуры гриба. Обработку спор и микробных клеток проводили 0,2%- и 1,0%-ными растворами *Intra Hydrocare* (время контакта — 24 ч). Контролем служил вариант с использованием стерильной воды.

Влияние препарата *Intra Hydrocare* на фотосинтезирующие ткани растений выявляли на основе анализа фотосинтетической активности листовых эксплантов салата и томата с использованием хлорофиллфлуориметра LPT-3CF [5] после суточного инкубирования исследуемых образцов в растворе препарата концентрациями 0,2% и 1,0%.

Определение характера воздействия препарата Биопаг на клетки *F. solani* и проростки огурца проводили с использованием растворов с концентрациями от 0,2 до 0,6% при длительностях экспозиции 20, 40 и 60 мин.

В последнее время все большую популярность приобретает одно из прогрессивных направлений в защите сельскохозяйственных растений от болезней — разработка и внедрение в сельскохозяйственную практику средств биологического контроля. Препараты, содержащие живые структуры микроорганизмов, отвечают требованиям экологической безопасности. Как правило, они используются в системе интегрированной защиты растений для снижения доли агрессивных химических веществ.

Методом совместного культивирования на питательной среде бактерий из защитных биопрепаратов и патогенного гриба *F. oxysporum* установлено, что наиболее эффективными в борьбе с фузариозом овощных культур являются Гамаир и Алирин Б, под действием которых объем колоний гриба снижался по сравнению с контролем на 73,7% и 63,2% соответственно. Биоагенты из Пралина и Витаплана оказались неконкурентоспособными по отношению к изучаемому штамму патогена.

Применение биопрепарата Гамаир благотворно влияет на рост и развитие проростков огурца искусственно инфицированных патогенным грибом *F. oxysporum*. В опытных вариантах наблюдалось увеличение длины гипокотыля на 27,3% и улучшение общего состояния проростков на 8,0% по сравнению с контролем.

К перспективным и экологически безопасным физическим методам защиты растений относится применение лазерного облучения. Когерентный свет позволяет предотвратить развитие патологического процесса путем активизации защитных свойств растительного организма, а также за счет повышения функциональной активности микроорганизмов, входящих в состав биопрепаратов защитного действия [6].

Положительное действие лазерного облучения отмечалось в условиях *in vitro* на растениях огурца. Под действием метаболитов патогенного гриба *F. solani* средняя длина главного корня проростков снижалась на 16,5%. В варианте, где применяли фильтрат культуральной жидкости патогенного гриба совместно с обработкой семян когерентным светом, способность к корнеобразованию у проростков снижалась только на 9,8%.

Лазерное облучение плодов огурца на начальной стадии поражения патогенным грибом *Fusarium* снижало интенсивность развития болезни более чем на 46,3 %.

Лазерная стимуляция антифунгальной активности биопрепаратов наблюдалась в экспериментах с исполь-

зованием различных модели «*Fusarium* — биоагент». Установлено, что когерентный свет повышает антагонистическую активность защитных микроорганизмов по отношению к патогенному грибу. Выраженная лазерная стимуляция фунгицидных свойств микроорганизмов, которые проявлялись в подавлении роста гриба *F. solani*, наблюдалась у препаратов Планриз (на 12,57%), Пралин (на 18,72%) и Алирин-Б (полное отсутствие роста гриба в варианте с облучением при наличии роста мицелия в контрольном варианте).

Выявлено изменение состава ризосферной микробиоты растений после применения облученных и необлученных когерентным светом биопрепаратов. Наблюдался существенное снижение инфекционного фона в вариантах с обработанными лазером препаратами. Количество клеток патогена *F. solani* при применении облученного Алирина-Б уменьшалось на 78,5 %, Гамаира на 49,5 % в сравнении с необлученными образцами.

Применение современных химических методов защиты растений строго регламентировано. Допущенные к использованию химические препараты должны соответствовать экологическим нормам.

Дезинфектант *Intra Hydrocare* компании Intracare (Netherlands), рекомендуемый к использованию в условиях защищенного грунта, отвечает современным требованиям. Он создан на основе 50% раствора перекиси водорода и коллоидного серебра. Была изучена эффективность данного дезинфицирующего средства в отношении чистой культуры *F. oxysporum*. После посева на твердые питательные среды суспензии клеток гриба, инкубируемых в течение суток в растворе *Intra Hydrocare*, отмечено отсутствие роста колоний патогена. Параллельно проводился анализ фотосинтетической активности листовых высечек салата и томата после выдерживания исследуемых образцов в препарате *Intra Hydrocare* в течение суток. Значение показателя фотосинтетической активности тканей листа при использовании 0,2%-ного раствора оставалось на уровне контроля (листья в воде). Это свидетельствует о его безопасности для применения на вегетирующих растениях. Эффективность данного дезинфицирующего средства была также проверена при обработке поверхностей и оросительной системы в теплице. Использование 2%-ного раствора *Intra Hydrocare* препарата позволило достичь стерильности капельно-оросительной системы и поверхностей в теплице.

Препарат Биопаг (производитель — ООО «Международный институт эколого-технологических проблем») относится к веществам 4 класса опасности. Содержит гидрохлорид или полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ) — катионный полиэлектролит, обладающий уникальным сочетанием физико-химических. Механизм биоцидного действия обусловлен электрокинетическим действием гуанидиновой группы (обладающей локальным положительным зарядом) на участки микробной клетки, изменяя ее поверхностный потенциал, тем самым нарушая питание, дыхание и метаболизм. После воздействия препарата Биопаг в течение 20, 40 и 60 мин. в концентрациях от 0,2 до 0,6% наблюдалась полная гибель клеток *F. solani*. В связи с этим на питательных средах роста колоний данных патогенов отмечено не было, при этом в контрольном варианте мицелий гриба занимал почти весь «газон» чашки Петри. При использовании

данного препарата в концентрации 0,6% для обработки семян огурца в течение 20 мин., полученные проростки имели признаки хлороза. Более низкое содержание препарата в рабочем растворе не вызывало видимых нарушений в их развитии.

Таким образом, в целях снижения ущерба наносимого фитопатогенами необходима организация комплексной защиты растений, предполагающей интеграцию экологически безопасных методов борьбы с болезнями: биологических, химических, физических и других. Данный подход способствует повышению их эффективности и сохранению окружающей среды.

Список литературы

- Поликсенова В.Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений. Минск: БГУ, 2008. 159 с.
- Кокоулина Е.М. Биологическая защита огурца на малообъемном субстрате в теплицах Предуралья // Вестник защиты растений. 2008. № 4. С. 49–50.
- Жизнь растений. В 6 томах Т. 2. Грибы / под ред. проф. М.В. Горленко. М., Просвещение, 1974. 479 с.
- Murashige T.; Skoog. F. A. Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. 15 (3). P. 473–497.
- Способ оценки фотосинтетической активности растительных организмов: патент РФ 2352104 МПК: А 01 G 7 00 / О.Н. Будаговская, А.В. Будаговский, И.А. Будаговский; заявка № 2007121425/12 от 07.06.2007.
- Maslova M.V., Grosheva E.V., Budagovsky A.V., Budagovskaya O.N. The Effect of Laser Irradiation on The Activity of The Bacteria *Bacillus Subtilis* and *Pseudomonas Fluorescens* // *Amazonia investiga*. 2019. V. 8. N. 21. P. 610–616.

ФИТОСАНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА СЕМЯН СОРГО ЗЕРНОВОГО

Матвиенко, Е.В., Кинчарова, М.Н.

Поволжский НИИСС — филиал Самарского научного центра РАН, Кинель

Наиболее вероятным центром происхождения сорго считается Северо-Восточная Африка, в частности Эфиопия и Судан, где в настоящее время находится наибольшее количество ее диких видов и культурных форм. Среди важнейших культур мира сорго занимает четвертое место после пшеницы, риса и кукурузы. Сорго принадлежит к обширному семейству мятликовых (*Poaceae*), роду соргум [5].

Обязательным элементом в технологии возделывания любой сельскохозяйственной культуры должны быть мероприятия, направленные на снижение фитосанитарных рисков. Для посева целесообразно использовать полновесные кондиционные семена районированных и перспективных сортов, чтобы получить дружные всходы и хорошее развитие растений сорго. Для обеспечения максимальной урожайности семян зернового сорго, сокращения затрат на проведение сортовых и видовых прополок, необходимо использовать оригинальные семена, элиту, первую и вторую репродукции [6]. В последние годы в связи с широким распространением минимальных технологий и изменением климатических условий в Среднем и Нижнем Поволжье резко нарастает распространенность и вредоносность возбудителей плесневения семян практически на всех сельскохозяйственных культурах.

По мнению многих авторов на сорго плесневение семян вызывается многими грибами, но основными являются *Alternaria* spp и *Fusarium* spp [4, 7]. На семенах были также обнаружены грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus* [4] но они встречались сравнительно редко и в местных условиях не имели сильного влияния на посевные качества семян и отрицательного влияния на всхожесть и развитие проростков. В степной зоне Украины Г.В. Грисенко и Т.Л. Согула (1978) во ВНИИ кукурузы выявили основные вредоносные болезни

на сорго — плесневение и загнивание семян при прорастании. Возбудителями данных заболеваний, по их мнению, являлись грибы из родов *Penicillium*, реже *Fusarium* [3].

Цель исследования — идентифицировать патогенную микрофлору на семенах сорго и дать рекомендации по снижению вредоносного действия этих организмов на ранних этапах органогенеза растений сорго.

Фитопатологическую экспертизу семян сорго проводили по ГОСТ 12044–93: макроскопическим и биологическим методами [1]. Семена проращивали на гофрированной фильтровальной бумаге во влажной камере с естественной вентиляцией. Всхожесть и энергию прорастания определяли по ГОСТ 12038–84 [2]. Зараженность семян определяли путем осмотра каждого семени индивидуально под бинокляром и проведением микроскопирования.

Фитоэкспертиза семян — очень важная часть современных технологий производства, она позволяет выявить возможную поражаемость растений и семян болезнями. И тем самым дает возможность сохранить высокий урожай и качество зерна. Только правильная диагностика болезней, знание причин их возникновения и особенностей развития являются основой успешного проведения профилактических и защитных мероприятий. Качественное протравливание семян фунгицидами должно начинаться с обязательного проведения фитоэкспертизы. На основании результатов фитоэкспертизы делают заключение о возможности использования партии для семенных целей и о необходимости проведения их обработки [8].

Результаты анализа проведенной фитоэкспертизы семян сорго зернового в 2019 году показали, что плесневение вызывается многими видами грибов, но наиболее распространенными в наших исследованиях оказались

Mucor sp., *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Trichothecium roseum*. В меньшей степени встречались *Aspergillus* и др.

Патогенные грибы рода *Alternaria* были отмечены на поверхности 1–8% семян, *Fusarium sp.* — 2–4%.

Следует отметить, что на 1–3% семян отмечалось конидиальное спороношение гриба *Nigrospora sp.* вызывающего нигроспороз кукурузы, сорго, риса и др. и, на 1–6% семян возбудителя церкоспороза *Cercospora sorghi*.

Количество здоровых семян сорго колебалось от 18 до 81%, здоровых, но не проросших до 10%. Пораженные семена давали неполноценные проростки или совсем их не образовали и их содержание составляло от 19 до 100%.

Фитосанитарная экспертиза посевного материала позволяет правильно оценить состояние посевного материала, правильно подобрать фунгицид и подойти к протравливанию дифференцированно (то есть при недостатке средств защиты перераспределить их, обратив внимание на наиболее сильно зараженные партии семян).

Список литературы

1. ГОСТ 12044–93: Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. Минск, 1993, 57 с.

- ГОСТ 12038–84: Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. — М.: Стандартиформ, 2011, 64 с.
- Грисенко Г. В. Эффективность протравителей семян сорго // Бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института кукурузы. 1978. вып. 4 (51). С. 46–49.
- Кукин В. Ф. Грибные болезни семян и проростков сорго // Научные труды Всесоюзного селекционно-генетического института им. Лысенко. Киев, 1964. Вып. 6. С. 202–204.
- Малиновский Б. Н. Сорго на Северном Кавказе // Ростов-на-Дону: Изд. РГУ, 1992. 208 с.
- Матвиенко Е. В. Основы семеноводства сорго в Самарской области // Международный журнал гуманитарных и естественных наук, 2019, №11–3 (38). С. 39–45.
- Морщацкий А. А. Болезни сорго в Присивашье // Кукуруза, 1975, № 12. С. 25–26.
- Пикущева Э. А., Шадрина Л. А., Долбилова Т. А. Снижение фитосанитарных рисков в агроценозе озимой пшеницы в осенние и ранневесенние фазы вегетации // Защита и карантин растений, 2019, №8. С. 92–101.

НОВЫЕ ВИДЫ МИКОПАТОГЕНОВ СЛИВЫ И ВИШНИ ЗАПАДНОГО ПРЕДКАВКАЗЬЯ

Мищенко И.Г.

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар

В связи изменяющимися климатическими условиями последних лет (теплые зимы, аномальная жара в летние периоды) косточковые культуры стали более подвержены влиянию биотических факторов, что ослабляет их и предрасполагает к возникновению патологического процесса различной локализации. Увеличилась вредоносность доминантных заболеваний, ежегодно выявляются новые виды микопатогенов, которые приводят к дестабилизации фитосанитарной ситуации в агроценозах косточковых культур.

Изучение современного видового состава возбудителей патогенов, их биоэкологических особенностей является актуальной задачей, решение которой позволит прогнозировать фитосанитарную ситуацию в биоценозах, повысить эффективность систем защиты и минимизировать потери урожая.

С 2014 г. в насаждениях сливы и вишни региона отмечается расширение видового разнообразия и частоты встречаемости грибов рода *Fusarium* Link., что вызывает необходимость уточнения их видового состава и распространения [1]. На сливе и вишне выявлены фузариевые грибы из трех секций: *Sporotrichiella* — *Fusarium sporotrichioides* Sherb. (частота встречаемости 70%); *Discolor* — *F. culmorum* W.G. Smith (20%); секция *Gibbosum* — *F. eguisei* (Corda) Sacc. (10%). Наиболее вредоносный — *F. sporotrichioides* (впервые был идентифицирован на сливе в 2009 г.) обладает широкой органотропной специализацией: не только вызывает корневые гнили, но проявляется в виде трахеомикоза

(увядания верхушек побегов), поражает завязи и созревающие плоды.

На Черноморском побережье Краснодарского края в 2014, 2017 гг. было поражено 30% завязей сливы сорта Стенлей, в центральной зоне — 10% завязей сорта Кабардинская ранняя.

На вишне *F. sporotrichioides*, вызывающий трахеомикоз, был обнаружен в 2015 г.; заболевание развивалось с фенофазы «цветение» и до уборки урожая. В 2015–2016 гг. на сортах вишни Краснодарская сладкая, Нефрис, Эрди Ботермо в апреле отмечалось увядание до 10% верхушек побегов и соцветий, к концу июля распространение трахеомикоза достигало 40%. В 2017 г. встречались отдельные деревья вишни, пораженные *F. sporotrichioides* до 90%, в 2018, 2019 гг. — до 60% кроны.

Грибы рода *Fusarium* имеют широкий абиотический оптимум, их распространение наблюдается и во второй половине вегетации. На плодах встречаются патоконплексы: *F. sporotrichioides* — *F. culmorum* — *F. eguisei* (распространение 10%); *F. sporotrichioides* — *Monilia spp.*, *F. sporotrichioides* — *Botrytis cinerea* Fr. — *Monilia spp.* (5–8%), *F. sporotrichioides* — *Gloesporium cerasi vulgaris* (5–7%). Вероятно, расширение видового разнообразия и частоты встречаемости фузариевых грибов на косточковых культурах в условиях Юга России является следствием, с одной стороны, возрастающего количества дней с аномально низкой температурой в зимний и ранневесенний период, а с другой, — адаптацией этих грибов к низким температурам благодаря способности

образовывать хламидоспоры и склероции, а также физиолого-биохимических особенностей, позволяющих осваивать разные субстраты и приспосабливаться к различным условиям окружающей среды [1,2].

С 2009 г. мучнистая роса (*Podosphaera tridactyla* de Bary.) на побегах и листьях встречалась очагами, в 2018 и 2019 гг. наблюдалась эпифитотия *P. tridactyla* (теплая погода с дождями, обильные росы и умеренная температура воздуха (+ 23–25 °С). Проявление болезни отмечается в первой декаде июня. Температурный фактор является основным для ослабления развития мучнистой росы. Температуры воздуха ниже — 23°С являются губительными для патогена [3].

Альтернариоз (*Alternaria spp.*) на листьях наблюдается в августе-сентябре, особенно на ослабленных после погодных стрессов деревьях. Симптомы поражения — часто сливающиеся пятна, занимающие более 50% поверхности листа. Установлен температурный фактор, ускоряющий течение патологического процесса и скорость распространения инфекции: средняя температура воздуха +16–21 °С, максимальная — +27–36 °С. У патогена наблюдается переход от сапротрофной фазы существования *Alternaria* в микопатогенности вишни к полусапротрофной фазе. С 2018 г. в регионе отмечается инфицирование *Alternaria spp.* в камеди на ветках вишни.

Антракноз (*Gloesporium spp.*) был выявлен с 2012 г. на побегах и поверхности коры саженцев. Оптимальные показатели для возбудителя *Gloesporium spp.*: температура — от + 16 до 27 °С; влажность воздуха около 90%; высокий уровень рН в почве, а также, если растению не хватает калия и фосфора [4]. В сезоне 2016 г. зафиксировано освоение нового субстрата — плодов вишни (*Gloesporium cerasi vulgaris* Lindau; Syll.). Возрастание вредоносности антракноза является подтверждением тенденции увеличения распространения видов грибов, устойчивых к воздействию стресс-факторов.

У постоянного возбудителя ржавчины сливы — *Tranzschelia pruni-spinosae* Pers., который проявляется на листьях в мае, в октябре 2018 года (поздний срок) Якуба Г.В. был определен новый вид — *Tranzschelia discolor* (Fuck.). Отличия нового вида от *T. pruni spinosae*: пикниды более редкие; шипики по количеству и величине значительно редуцированы, чем у *T. pruni spinosae*; ножки у основания дольше остаются склеенными; споры освобождаются не в одиночку, а в звездных клубочках; мелкие, компактные ложа располагаются на бледных, обесцвеченных пятнах. Таким образом, у ржавчины наблюдается расширение ареала, увеличение вредоносности, что связано с аномально высокими температурами и отсутствием осадков во

второй половине вегетации. Это согласуется с данными зарубежных исследователей, прогнозирующих распространение ржавчинных грибов в более теплых и сухих условиях лета [5].

В 2019 г. в насаждениях сливы впервые были выявлены возбудители септориоза *Septoria pruni* Ell. и аскохитоза *Ascochyta spp.*, характеризующиеся поздним сроком поражения листьев. Появление болезней может быть связано с изменением погодных условий в октябре: резкими перепадами дневных и ночных температур и влажной теплой погодой.

В центральной и черноморской зонах на ветвях сливы отмечаются патоконплексы: *Cryptosporiopsis corticola* (Edg.) Nannf. — *Fumago vagans* Pers.; *F. sporotrichioides* — *M. cinerea* — *Fumago vagans* Pers.; *Phomopsis mali* Schulz et Sacc. (Roberts) — *F. sporotrichioides*; *Botryosphaeria stevensii* Shoemaker — *Alternaria spp.*, *Corineum microstictum* Berk. et Br. — *Clasterosporium carpophilum* (Lev); а также на листьях микопатогены с вирусами: *Prunus necrotic ringspot virus* — *Polystigma rubrum* DC.; *Prunus necrotic ringspot virus* — *Chondrostereum purpureum* (Fr.) Pouz.

Таким образом, на современном этапе под влиянием биотических и антропогенных воздействий насаждения сливы и вишни становятся восприимчивыми к поражению новыми видами микопатогенов, что следует учитывать при разработках инновационных технологий оздоровления и защиты косточковых культур в меняющихся условиях среды.

Список литературы

1. Якуба Г.В., Мищенко И.Г. Распространение грибов рода *Fusarium* на плодовых культурах юга России // Плодоводство и ягодоводство России. — Т. 58. — 2019. — С. 206–211. https://vstisp.org/vstisp/images/Contents-58_volume.pdf
2. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений. — 2011. — № 5 (Приложение). — 51 с.
3. Прах С.В., Мищенко И.Г. Болезни и вредители косточковых культур и меры борьбы с ними — Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2013 г. — 98 с.
4. Мищенко И.Г. Новые виды патогенов косточковых культур в Краснодарском крае [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2013. № 22(4). С. 99–105. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/13/04/11.pdf>.
5. Juroszek P, Tiedemann AV. Potential strategies and future requirements for plant disease management under a changing climate. // Plant Pathol. — 2001. Vol. 60 (1). — P. 100–12.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТВОРА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ И БАКТЕРИЙ *KLEBSIELLA PLANTICOLA* НА ТОМАТАХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА ПРИ ПОДАВЛЕНИИ АЛЬТЕРНАРИОЗА

Приходько Е.С. Смирнов А.Н.

Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва

Молочная сыворотка относится к вторичному молочному сырью, ее получают как побочный компонент при производстве кисломолочных продуктов сыров, творога, казеина. Сыворотка — богатый пищевой продукт. Она содержит: лактоферин, иммуноглобулин, витамины группы В, витамины А, С, Е, никотиновую кислоту, холин, биотин, микро и макроэлементы: Са, К, Fe, Zn, аминокислоты и пробиотические бактерии (Пищиков, Зенкова, 2017).

Так как сыворотки остается много после переработки молочной продукции на молочных заводах, то ее либо продают на корм КРС, либо просто выливают, тем самым нанося вред окружающей среде из-за отсутствия оборудования по ее переработке (Смирнова, 2017).

В решении этой проблемы были проведены обработки раствором молочной сыворотки, бактериями *Klebsiella planticola*, штамм ТСХА-91 и препаратом Триходерма Вериде 471, СП в 2012–2013 гг на томатах защищенного грунта.

Томаты защищенного грунта более поражаются альтернариозом. Для подавления патогена используют препараты как химического, так и биологического происхождения. Используются бактерии, являющиеся ассоциативными азотфиксаторами, обогащающие ризосферу растения азотом в доступной форме. Одной из таких бактерий является *Klebsiella planticola* (Блинков и др., 2014, Феоктистова и др., 2014; Приходько, Смирнов, 2018). Также интерес ученых АПК стала вызывать молочная сыворотка по усилению ростовых процессов и являющаяся источником ферментов и их активаторов (Пашкова, Кузьминых, 2016). Антимикотические свойства бактерий и раствора молочной сыворотки оставались, как правило, недоизученными.

В хозяйстве Большое Карасево, Коломенского района Московской области в 2013 г. провели полевые и лабораторные исследования по проверке фунгистатической активности бактерий *K. planticola* и раствора молочной сыворотки. Цель была следующей — изучить эффективность использования бактерий *Klebsiella planticola*, раствора молочной сыворотки и препарата Триходерма Вериде 471, СП при подавлении альтернариоза.

Материалы и методы. В работе по защите томатов защищенного грунта от болезней использовались препараты: Триходерма Вериде 471, СП, бактерии *K. planticola* и раствор молочной сыворотки.

Учеты распространения, развития альтернариоза на томатах и встречаемости конидий возбудителя проводили через 10 дней после проведения обработок. Обработку томатов защищенного грунта проводили в вечерние часы в соответствии с регламентами списка разрешенных пестицидов и агрохимикатов на 2013 г.

В 2013 г. обработки проводились 25.05.2013 г., 05.06.2013 г. и 16.06.2013 г. Отбирали листья томатов, пораженные альтернариозом, закладывали их во влажные камеры, инкубировали при температуре 22–24°C. Налеты на листьях, анализировали посредством свето-

вой микроскопии при увеличениях x800–2000. Определяли количество конидий в поле зрения 1 мм² в 10 полях зрения. Учет распространения (Р, %) и индекс развития (ИР) альтернариоза рассчитывали по формулам:

$$P = n \cdot 100 / N \text{ и} \\ IP = \sum (a_i; v_i) \times 100 / 5N,$$

где n — число больных растений; $\sum(a_i; v_i)$ — сумма произведений числа больных растений (a_i) на соответствующий им балл поражения (v_i); наименьший балл 0 (отсутствие поражения); 1–0,1–10% растения поражено, 2–11–30% поражено, 3–31–60% поражено, 4–61–89% поражено, 5 (наибольший) — 90–100% растения поражено), N — общее число больных и здоровых растений.

Индекс образования конидий (ИК) рассчитывали по формуле:

$$IK = 0,05 \cdot ОРК + 0,1 \cdot РК + 0,5 \cdot УК + 0,75 \cdot ЧК + ОЧК,$$

где: ОРК — процент встречаемости образцов с очень редкими конидиями (<5 конидии/поле зрения — 1 мм²), РК — с очень редкими конидиями (5,1–15 конидий), УК — с умеренной частотой конидий (15,1–20 конидий), ЧК — с частыми конидиями (20,1–25 конидий), ОЧК — с очень частыми конидиями (> 25 конидий). ИК определяли по данным, соответствующим 7-суточной инкубации образцов во влажных камерах.

Индекс агрессивности (ИА) популяции *A. alternata* определяли по формуле $ИА = P \cdot IP \cdot IK / 10000$ (Приходько и др., 2016).

Результаты и обсуждение. Появление симптомов альтернариоза на томатах в вегетационный период 2013 г. было отмечено в первой декаде июня. В контроле в 2013 г. прибавка к контролю в урожайности составила 12,5% в варианте с обработкой бактериями *K. planticola*, в варианте с обработкой раствором молочной сыворотки прибавка составила 15,8%, а в варианте с обработкой препаратом Триходерма Вериде 471 прибавка составила 14,9% с урожайностью в контрольном варианте 320,1 ц/га. Данные развития альтернариоза и *A. alternata* для 2013 г. даны в табл. 1, 2.

В 2013 году нестабильный фунгицидный эффект показал вариант обработки бактериями *K. planticola*, где биологическая эффективность составила 15,3%–29,2% по сравнению с эталонным препаратом Триходерма Вериде 471, СП, у которого биологическая эффективность составляла 35,3–34,5% при развитии в контроле 58,0–60,0% (табл. 1–2).

Применение раствора молочной сыворотки против альтернариоза оказалось эффективным, по сравнению с обработкой бактерией *K. planticola* и практически не уступала эталонному препарату Триходерма Вериде 471, СП. Биологическая эффективность была 29,3–30,0% при развитии в контроле 58,0–60,0%.

В 2013 году третья обработка бактериями *K. planticola* привела к отрицательным последствиям в

Таблица 1. Показатели развития болезни, патогена и эффективность на томатах в закрытом грунте сорта Мишель в 2013 г. (Коломенский район, Большое Карасево)

Вариант опыта (обработка)		Альтернариоз		A. alternata	
корневая	растений	Индекс развития, %	Биологическая эффективность, %	Индекс образования конидий	Индекс агрессивности
Контроль (без обработки)		58,0	–	5	2,9
K. planticola		49,1	15,3	5	2,8
Раствор молочной сыворотки		41,0	29,3	5	2,9
Триходерма Вериде 471 (эталон)	Триходерма Вериде 471, СП (эталон)	37,5	35,3	5	2,9
НСР ₀₅					1,3

Таблица 2. Влияние корневой обработки томатов и растений на распространение и развитие A. alternata перед уборкой (2013г.)

Вариант опыта (обработка)		Альтернариоз		A. alternata		Урожайность, кг/м ²	% к урожайности
корневая	растений	Индекс развития, %	Биологическая эффективность, %	Индекс образования конидий	Индекс агрессивности, %		
Контроль (без обработки)		60,0	–	3,8	5,6	2,08	–
K. planticola		42,5	29,2	5,0	5,1	2,34	+12,5
Молочная сыворотка		42,0	30,0	2,5	5,0	2,41	+15,8
Триходерма Вериде 471 (эталон)		39,3	34,5	2,5	5,0	2,39	+14,9
НСР ₀₅						0,69	

виде провоцирования образования конидий и увеличения агрессивности патогена *A. alternata* этот эффект связан с развитием альтернариоза (табл. 2).

Заключение. Данные результаты, полученные при проведении исследований, свидетельствуют не только о разной эффективности применяемых препаратов против альтернариоза томатов защищенного грунта, но о разном влиянии на фитосанитарную ситуацию в посадках томата. У бактерий *Klebsiella planticola* наблюдались разные эффекты: от подавления патогена и оздоровления фитосанитарного состояния растений томатов до обратного эффекта в 2013 г. Применение раствора молочной сыворотки наблюдалось понижение развития патогена, его инфекционной нагрузки и улучшению фитосанитарного и санитарного состояния томатов.

Данное исследование показало, что, используя бактерии *Klebsiella planticola* и молочную сыворотку против альтернариоза в сельском хозяйстве, применяются суспензии и растворы, подавляющие заболевание. Удобрения на напряженном инфекционном фоне использовать не следует. Применение бактерий, молочной сыворотки и биопрепарата требует дальнейшего изучения. Также применяя молочную сыворотку, ее раствор, решается не только экологическая проблема загрязнения окружающей среды, но и защитить растения от патогенов.

Список литературы

1. Блинков Е.А. и др. Образование ауксина штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 и его влияние на развитие семян огурца посевного (*Cucumis sativus* L.) / Е. А. Блинков, Е. А. Цавкелова, О. В. Селицкая // Микробиология-т. 83-№5-с. 543–551
2. Пашкова Г.И. Влияние растворов молочной сыворотки и стимуляторов роста на урожайность и качество зерна яровой пшеницы / Г.И. Пашкова, А.Н. Кузьминых // Аграрная наука Евро-Северо-Востока-№2(51). — Марий-Эл, 2016. — С. 9–14.
3. Пищиков Г.Б., Ценность молочной сыворотки и перспективы ее использования. / Пищиков Г.Б., Зенкова Е.А. // Молодежь и наука — №3–2017; с. 43.
4. Приходько Е.С. Эффективность химических и биологизированных препаратов разного действия от болезней картофеля на фоне напряженного инфекционного фона / Приходько Е.С., Смирнов А.Н. // Защита картофеля — №1–2018-с. 41–44.
5. Приходько Е.С., Селицкая О.В., Смирнов А.Н. Влияние фунгицидов и культуральной жидкости ризобактерии *Klebsiella planticola* на развитие фитопатогена *Alternaria alternata* на картофеле. Известия ТСХА, Москва, 2016; №5, с. 68–80.
6. Смирнова А.С., Разработка технологии использования раствора молочной сыворотки при возделывании сельскохозяйственных культур / Смирнова А.С. // Интеллектуальная собственность и современные техника и технологии для развития экономики. Материалы V республиканской молодежной научно-практической конференции в рамках Всероссийского студенческого форума «Инженерные кадры — будущее инновационной экономики России» Йошкар-Ола, 22–23 ноября 2017 года — с. 117–119.
7. Феоктистова Н.В Марданова А.М., Хадиева Г.Ф. и др. Ризосферные бактерии. Ученые записки Казанского Университета Серия Естественные науки, 2016; т. 158, кн. 2, с. 207–224.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ФИТОСАНИТАРНОГО МОНИТОРИНГА ПОСЕВОВ МНОГОЛЕТНИХ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПОЛЕВЫХ ИСКУССТВЕННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ФОНОВ

Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю.
ФНЦ “ВИК им. В.Р. Вильямса”, Лобня

В условиях Нечерноземной зоны России основными кормовыми культурами являются многолетние травы, а среди них — клевер, тимофеевка, кострец, райграс, ежа и др.

Одним из важных условий получения высоких и стабильных урожаев является защита их от различных патогенов. Наибольшую опасность для многолетних кормовых трав представляют болезни, вызываемые грибами родов *Fusarium* Lk., *Sclerotinia* Fuck., *Helminthosporium* Lk. et Fr. (= *Bipolaris* Shoem., *Drechslera* Ito) и др. В связи с этим, основным направлением исследований является фитосанитарный мониторинг посевов, позволяющий не только выявить основные болезни, но и спрогнозировать на основании многолетних данных по развитию заболеваний главные направления селекции на устойчивость к конкретным патогенам. Значительно облегчает аналитическую работу с многолетними данными создание электронной базы фитосанитарного мониторинга [1].

Большую роль в системе управления фитосанитарным состоянием агроценозов играет селекция и возделывание сортов, устойчивых к неблагоприятным биотическим и абиотическим стрессорам [2].

В основе разработки методов генетической защиты кормовых культур должны лежать сведения об изменчивости природных популяций фитопатогенных грибов по признаку вирулентности. Выявление спектра изменчивости патогенных свойств в популяциях возбудителей, сравнительный анализ состава популяций в различных агроэкологических зонах, ежегодный мониторинг популяционного состава позволяют обосновать создание и использование определенных источников устойчивости в селекции сортов кормовых трав для различных регионов России.

Для создания селекционного материала кормовых культур, обладающего повышенной устойчивостью к патогенам, оценку болезнеустойчивости необходимо проводить в условиях полевых искусственных инфекционных фондов. В свою очередь, при создании фондов нужно учитывать полученные данные фитосанитарного мониторинга о постоянно изменяющемся видовом и популяционном составе того или иного возбудителя в условиях естественного заражения.

В 2019 году на полях ФНЦ “ВИК им. В.Р. Вильямса” продолжены многолетние исследования по фитосанитарному мониторингу посевов основных кормовых культур в условиях естественного заражения.

На клевере луговом в условиях ЦЭБ института было зарегистрировано 8 заболеваний: рак, фузариоз, бурая пятнистость, аскохитоз, антракноз, ржавчина, мучнистая роса, вирусы.

Засушливые и жаркие погодные условия в апреле-мае 2018–2019 годов способствовали развитию склеротиниоза и фузариозных корневых гнилей на растениях клевера лугового.

Если в условиях 2018 года распространенность фузариоза и рака составляла 56 и 32%, то в 2019 году эти

показатели были 65 и 57% при средних многолетних значениях — 69 и 37%.

Экстремальные погодные условия вегетационного периода 2019 года неблагоприятно сказались и на развитии ряда филлосферных болезней клевера лугового.

Ниже средних значений была распространенность бурой пятнистости, аскохитоза, ржавчины и вирусов (на 13, 24, 22 и 5%).

Антракнозом и мучнистой росой растения клевера лугового были поражены на 9 и 15% выше средних многолетних показателей.

Проведенный фитосанитарный мониторинг на посевах многолетних злаковых трав на естественном фоне заражения показал, что, как и в предыдущие годы исследований, наиболее распространенными заболеваниями были пятнистости.

Первые симптомы развития болезней можно наблюдать уже в фазу кущения. Максимального развития изучаемые заболевания достигают в фазу созревания семян. Как правило, на одном и том же растении диагностируется несколько видов фитопатогенных грибов.

Ежегодно в посевах костреца безостого наблюдается интенсивное развитие гельминтоспориоза. В период уборки семян практически все растения поражены возбудителем *Drechslera*, а интенсивность развития болезни достигает 56%.

В 2019 году распространенность гельминтоспориоза на райграсе пастбищном составила 100%, а интенсивность развития болезни колебалась от 13 до 33%, что значительно ниже средне многолетнего показателя (79%).

На тимофеевке луговой в фазу созревания семян было отмечено сильное развитие гетероспориоза и сколекотрихоза. Распространенность пятнистостей составила 100%, что выше средних многолетних значений на 23 и 32%.

На еже сборной было зарегистрировано 2 заболевания — мастигоспориоз и сколекотрихоз. Распространенность белой пятнистости в 2019 году составила 89%, а серой — 88%, при средних многолетних значениях 58% и 63%.

Ежегодно на посевах многолетних злаковых трав сразу после схода снега весной наблюдается развитие снежной плесени. Однако весной в 2019 году единичные симптомы поражения были отмечены лишь на растениях райграса пастбищного, и распространенность болезнями не превышала 1 балла.

В лаборатории иммунитета ФНЦ “ВИК им. В.Р. Вильямса” с 2006 года в рамках фитосанитарного мониторинга проводятся исследования по выделению, идентификации и изучению возбудителей корневых гнилей основных кормовых культур (злаковые травы, клевер луговой). Созданная и постоянно пополняющаяся новыми возбудителями коллекция патогенов используется при наработке инокулюма для создания полевых искусственных инфекционных фондов.

Таблица — Видовое разнообразие грибов р. *Fusarium*, выделенных из пораженных корневыми гнилями растений клевера лугового (естественный фон заражения)

Вид	Частота встречаемости, %						
	Годы наблюдений						
	2000–2009	2010–2015	2016	2017	2018	2019	Среднее 2016–2019
<i>F. oxysporum</i>	16	22	25	19	20	22	22
<i>F. gibbosum</i>	20	14	0	0	0	0	0
<i>F. avenaceum</i>	16	10	9	10	10	18	12
<i>F. semitectum</i>	6	3	0	0	0	0	0
<i>F. sambucinum</i>	12	15	20	24	25	20	22
<i>F. solani</i>	6	24	19	22	20	20	21
<i>F. culmorum</i>	9	9	27	24	25	20	24
<i>F. sporotrichiella</i>	5	0	0	1	0	0	0
<i>F. javanicum</i> Koord	5	3	0	0	0	0	0
<i>Microdochium nivalet</i>	1	0	0	0	0	0	0
<i>F. graminearum</i> Schwabe	1	0	0	0	0	0	0

Многолетние наблюдения за изменением соотношения видов в составе популяции фузариев, вызывающих корневые гнили клевера лугового и райграса пастбищного в условиях естественного заражения, показывают на активно идущие формообразовательные процессы.

В 2019 году из растений райграса пастбищного было выделено 20 изолятов грибов из рода *Fusarium* и гриб *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett.

Установлено, что поражение корневыми и прикорневыми гнилями растений райграса пастбищного в наших условиях вызывают в основном грибы *Microdochium nivale* (возбудитель снежной плесени) и 4 вида фузариев — *F. sporotrichiella* Bilai, *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht. em. Snyd. et Hans. и *F. solani* (Mart.) App. et Wr. Частота встречаемости составила 8, 10, 5, 3 и 1% соответственно.

На клевере луговом в 2019 году возбудителями фузариозных корневых гнилей были 5 видов — *F. oxysporum*, *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., *F. sambucinum* Fuck., *F. solani* и *F. avenaceum*. Частота встречаемости этих видов составила 20–18%.

Анализ многолетних данных по изучению популяции возбудителей фузариоза на клевере луговом имеет большое значение для своевременной корректировки методики создания полевого естественного фона в части подбора видового состава фузариев при наработке инокулюма (таблица).

В 2000–2009 годах преобладающими видами в популяции фузариев на клевере луговом были *F. oxysporum*, *F. gibbosum* App. et Wr. em. Bilai, *F. avenaceum*, *F. sambu-*

cinum и *F. culmorum*. Эти 5 видов использовались при создании инокулюма.

В 2010–2015 годах к преобладающим видам добавился *F. solani* (Mart.) App. et Wr. Соответственно, изменился и состав вносимого инокулюма.

В 2016–2019 годах в популяции значительно возросла частота встречаемости вида *F. culmorum* — с 9 % в период 2000–2015гг до 24%. А виды *F. gibbosum* и *F. semitectum* Berk. et Rav. отсутствовали. В настоящее время при наработке инокулюма в наших условиях необходимо использовать виды *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *F. sambucinum*, *F. culmorum* и *F. solani*.

Полученные данные говорят о том, что работа на искусственном инфекционном фузариозном фоне, который создается раз в 4 года, должна сопровождаться постоянным мониторингом видового состава природной популяции грибов рода *Fusarium* в условиях естественного заражения, и состав используемого для создания инфекционного фона инокулюма должен ей соответствовать.

Список литературы

1. Пуца Н.М., Разгуляева Н.В., Костенко Н.Ю., Благовещенская Е.Ю. Фитосанитарный мониторинг и селекция основных видов и сортов кормовых культур на устойчивость к болезням. В книге: Основные виды и сорта кормовых культур. Итоги научной деятельности Центрального селекционного центра. М., Наука, 2015. С. 423–441.
2. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). М., 2001. — Т. 2. — 708с.

УСИЛЕННЫЙ ИНФЕКЦИОННЫЙ ФОН В ОЦЕНКЕ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА СОСНЫ ВЕЙМУТОВОЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ПУЗЫРЧАТОЙ РЖАВЧИНЕ

Ширнина Л.В.¹, Мелькумова Е.А.²

¹ВНИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж

²Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I

Сосна веймутова = ценный экзот, рекомендуемый для внедрения в лесные культуры нашей страны и ближнего зарубежья. Однако, наряду со многими преимуществами, эта порода отличается сильной восприимчивостью к фитопатогену, возбудителю пузырчатой ржавчины *Cronartium ribicola* Dietr., поражающему сосну с первых лет и на протяжении всей ее жизни.

Селекция данной породы на продуктивность и устойчивость проводится в ЦЧР с 70-х годов прошлого века. Совместными усилиями лесоводов и фитопатологов выделены лучшие по продуктивности насаждения и отдельные деревья, созданы испытательные культуры и архивы клонов плюсовых деревьев, дана оценка устойчивости к пузырчатой ржавчине видов родового комплекса, насаждений, деревьев различных селекционных категорий, проведен опыт гибридизации с целью получения устойчивых форм и определен порог вредоносности болезни. Полиморфизм сосны по степени устойчивости к патогену позволяют утверждать целесообразность селекции на данный признак как реального пути преодоления болезни [1]. Это направление активно разрабатывается на родине сосны веймутовой и других пятихвойных сосен — в США, где эта проблема является особенно актуальной [2–6], Канаде [7,8], Румынии [9,10].

Важный этап селекционного отбора — проверка отобранных форм по потомству. Масштабные испытания на естественном инфекционном фоне проведены в ЦЧО, в производственных и испытательных культурах сосны веймутовой [11]. Испытание семян — потомства лучших форм и гибридов — проведено в условиях искусственного провокационного фона, или инокуляции, который является эффективным для определения степени устойчивости к хозяйственно значимым фитопатогенам в самом раннем возрасте растений [12,13].

В течение 1992–1997 гг., впервые в ЦЧР, в г. Воронеже, Воронежской области, проведен эксперимент с целью оценки устойчивости семян сосны веймутовой к пузырчатой ржавчине. Подобные эксперименты в последующие годы не проводились. Испытывали семена в теплице открытого типа, на усиленном инфекционном фоне, по методу Р.Т. Бингема (1983), при оптимальных условиях внешней среды ($t=16^{\circ}\text{C}$, влажность воздуха 70–80%). Материалом послужили 400 шт. 2- и 4-летних семян — потомства плюсовых деревьев и 1202 гибридных семян от скрещивания сосны веймутовой (материнское дерево) и с. Гималайской (отец) (гибридизация И.И. Ивановой, 1993 г.). Инфекционный материал — пораженные листья смородины черной со зрелыми базидиоспорами, собранные на садовых участках, примыкающих к дендроучастку, на территории которого проведен эксперимент. Оценка характера и степени пораженности ржавчиной семян дана по признакам: число (%) пораженных семян в семье (варианте), цвет и число пятен на хвое [14], тип проявления болезни на коре ветвей и стволиков, признаки

наличия генов устойчивости [14]. Оценку восприимчивости к болезни семей давали по разработанной нами шкале: до 10% больных растений — семья устойчивая, 11–20% — слабопоражаемая, 21–30% — средневосприимчивая, 31–50% — сильновосприимчивая, свыше 50% — очень сильно восприимчивая.

Сроки инокуляции определяли на основе специальных фенологических наблюдений, проведенных по методу Г.Э. Шульца [15], в период апрель — сентябрь, на основе чего установлены сроки созревания телио-спор, способных заразить сосну.

Эксперимент с инокуляцией 2-летних семян — потомства плюсовых деревьев сосны веймутовой — проведен осенью 04.09.1992 г. Он включал шесть опытных вариантов и контрольный (без инокуляции). Весной следующего года (16.04.93 г.) проведена оценка пораженности семян. Результаты оценочных учетов представлены в таблице 1.

При искусственном заражении 4-летних растений различия в степени распространения и развития болезни в опытных и контрольных вариантах не зарегистрировано. Следовательно, метод искусственного заражения семян эффективен только в первые 2 года их жизни. Подобный вывод сделан румынским фитопатологом И. Блада [9]. Таким образом, выбраковка восприимчивых особей и семей на первой стадии селекционного процесса может сократить объем и сроки испытаний.

В соответствии с классификацией [14] обнаружено наличие трех типов проявления первых признаков заражения семян — появление на хвое пятен красных, желтых и красных с желтым ореолом (красно-желтых), что отражает сложность популяции возбудителя болезни. В большинстве семей преобладали красные пятна. Относительная доля красных пятен (80 шт./м), достоверно более высокая, чем в контрольных вариантах в 1,4–1,8 раза, позволяет считать, что в популяции патогена превалирует один ген, который проявляется в виде красных пятен. В отдельные годы он сменяется вторым (желтые пятна). Роль переходной формы проявления болезни не ясна.

Предыдущими исследованиями в молодых культурах сосны веймутовой были выявлены четыре типа развития пузырчатой ржавчины: пустульный, некротный, пустульно-некротный и некротно-пустульный, которые подробно описаны [1]. На инокулированных растениях преобладал первый тип — с обилием пустул на коре ветвей и стволиков. Однако в последующие годы наблюдалась смена «рангов» указанных типов, вероятно из-за смены рас патогена.

Результат инокуляции гибридных семян показал, что более половины семей имеют статус совершенно устойчивых к болезни (2 семьи, 6,5%), высокоустойчивых (5 семей, 16%) или слабопоражаемых (9 семей, 28,5%), в которых доля больных семян не превышает 20%. К категории средне- и сильно поражаемых ржав-

Таблица 1 — Характеристика пораженности пузырчатой ржавчиной 2- и 4-летних сеянцев сосны веймутовой в год инокуляции

Вариант	Длина учетных хвоек, м	Число пятен, шт.	Число пятен на 1 м хвои, %			Доля сеянцев с преждевременным опадением хвои, %	Степень распространения болезни, % по годам			Параметры язв, см	
			К	Ж	К-Ж		1993	1994	1995	высота расположения	протяженность
Инокуляция 04.09.92 г. 2-летних сеянцев											
Среднее для опыта											
	18,6	485	41,1	28,7	9,7	4,5	6,5	24,8	33,3	1,5	3,4
Контроль											
7	6,0	154	44,6	9,3	2,5	3,3	3,3	39,1	40,0	1,0	4,0
Инокуляция 07.09.94 г. 4-летних саженцев											
Среднее для опыта											
	11,1	285	48,1	18,0	10,4	4,3	57,1	66,5	—	6,2	12,7
Контроль											
7	15,9	236	27,2	14,1	3,2	0	60,0	62,0	—	9,7	11,8

Примечание: Цвет пятен К- красные, Ж- желтые, К-Ж- красно-желтые; — в столбцах данные 1995*, 1996** гг.; «—» нет данных

чиной относятся 12 и 3 семьи, соответственно 32% и 16%. То есть при использовании метода искусственного заражения сосны веймутовой на ранней стадии ее онтогенеза, можно выделить более половины достаточно устойчивых гибридных семей. Такие результаты дают основание считать селекцию на устойчивость к пузырчатой ржавчине возможной.

Список литературы

- Белобородов В. М. Рост деревьев сосны веймутовой в связи с пораженностью пузырчатой ржавчиной / В.М. Белобородов, Л.В. Ширнина // Отбор и его использование в улучшении лесных пород / Воронеж: НИИ лесн. генет. и селекции, 1994. — С. 75–82.
- Ирошников А.И. Международная конференция «Селекция и генетические ресурсы пятихвойных сосен: Рост, адаптация и резистентность к вредителям / А.И. Ирошников, Д.В. Политов // Лесоведение. — 2002. — № 6. — С. 72–75.
- Bingham R. T. Vigor, disease resistance, and field performance in juvenile progenies of the hybrid *Pinus monticola* Dougl. x *Pinus strobus* L. / R.T. Bingham, A.E. Squillace and R.F. Patton // Z. Forstgen. Forstflanzenzuecht. — 1956. — В. 5. — С. 104–112.
- Bingham R. T. Blister rust resistant western white pine for the Inland Empire: The story of the first 25 years of the research and development program / R.T. Bingham // Gen. Tech. Rep. INT-146 Ogden, UT: U.S. Dep. of Agr., Forest Ser. Intermountain Forest and Range Experimental Station. — 1983. — 45 p.
- Foster G. S. Indirect selection and clonal propagation of loblolly pine seedlings enhance resistance to fusiform rust / G.S. Foster, R.L. Anderson // Can. J. Forest Res. 1989. — V. 19, № 4. — P. 534–537.
- Froelich R. C. Annual variation in fusiform rust infection of slash and loblolly pine seed lots in time-replicated plantings / R.C. Froelich // Can. J. Forest Res. — 1989. — V. 19, № 12. — P. 1531–1537.
- Hunt R. S. Blister rust in inoculated and plantation tested western white pine in British Columbia / R.S. Hunt // Can. J. Plant Pathol. — 1990. — V. 12. — № 3. — P. 279–282.
- Kinloch B.B. Jr. White pine blister rust: hypersensitive resistance in sugar pine / B.B.Jr. Kinloch, J.L. Litterfield // Can. J. Bot. — 1977. — V. 55. — № 9. — P. 1148–1155.
- Blada I. Juvenile blister rust resistance and height growth of *Pinus strobus* x *P. peuce* F1 Hybrids / I. Blada // Silvae genet. — 1989. — Vol. 38, № 2. — P. 45–49.
- Blada I. Genetic Variation in Growth and Blister-Rust Resistance in a *Pinus strobus* x *P. wallichiana* Hybrid Population // Silvae Genetica. — 2004. — V. 53, № 1. — P. 33–41.
- Ширнина Л.В. Опыт фитопатологической оценки сосны веймутовой при испытании семенного и вегетативного потомства / Л.В. Ширнина, В.М. Белобородов // Генетико-селекционные основы улучшения лесов: Сб. науч. трудов. — Воронеж: НИИЛГиС, 1999. — С. 260–274.
- Крюкова Е. А. Биологические основы защиты дуба и вяза от инфекционного усыхания / Е.А. Крюкова, Т.С. Плотникова — М.: ВО Агропромиздат, 1991. — 127 с.
- Ширнина Л.В. Мониторинг развития патосистем в насаждениях древесных растений: экобиологические основы и практическое значение: монография; под. ред. д-ра биол. наук Е.А. Мелькумовой / Л.В. Ширнина, В.К. Ширнин, И.Я. Львович. — Воронеж: ИПЦ «Научная книга», 2014. — 214 с. — ISBN 978-5-4446-0549-3.
- Hoff R. J. Relative blister rust resistance of white pines / R.J. Hoff, R.T. Bingham and G.J. McDonald // Eur. J. of Forest Pathology. — 1980. — № 10. — P. 307–316.
- Шульц Г.Э. Общая фенология / Э.Г. Шульц. — Л.: Наука, 1981. — 188 с.

АНАЛИЗ ГРИБНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ТОМАТОВ ЮЖНЫХ РЕГИОНОВ РОССИИ

Шкункова Т.А.¹, Кивраки Д.^{1,2}, Еланский С.Н.^{1,3}, Чудинова Е.М.¹¹Российский университет дружбы народов, Аграрно-технологический институт, Москва²Университет им. Аристотеля в Салониках, Салоники, Греция³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Проведено исследование грибных поражений томатов на территории России. В южных регионах России климатические условия позволяют выращивать томаты в открытом грунте, где растения подвержены большому риску возникновения болезней по сравнению с культивацией в теплице. На исследованных полях Краснодарского края (Варениковская) и Крыма (Джанкой) наблюдалось много поражений, вызванных насекомыми (около 70%), которые затем колонизировались бактериями и грибами, также встречались растения с признаками грибного, бактериального поражения, смешанные поражения и поражения, возникшие в результате солнечного ожога. Для анализа грибных поражений отбирались плоды и листья с коричневыми пятнами или беловатым мицелием без проколов поверхности насекомыми. Пораженные плоды или листья растений томатов закладывались во влажные камеры, появившийся мицелий помещали на чашку Петри с сусло-агаром с добавлением пенициллина. Далее грибы анализировали по культурально-морфологическим признакам. В случае невозможности определения видовой принадлежности грибного организма с помощью визуального изучения, применяли метод определения по видоспецифичным маркерным последовательностям ДНК (ПЦР участка ITS1–5,8S–ITS2 с последующим секвенированием).

Было получено 85 изолятов грибов. Подавляющее большинство (72 изолята) относились к виду *Alternaria alternata*. Обнаружен патогенный гриб *Fusarium equiseti*. Этот патоген широко распространен в странах Азии (Akbar et al., 2018), распространение в России практически не изучено. Выявлено 2 штамма гриба *Phomopsis phaseoli*. *P. phaseoli* — один из распространенных патогенов сои, на томате этот гриб обнаружен впервые (Elansky et al., 2019). Найдены грибы, использующиеся для биоконтроля: *Chaetomium globosum*, *Clonostachys sp. C. globosum* — позиционируется как сапротрофный гриб, живущий в почве, вступающий в антагонистические отношения со множеством почвенных микроорганизмов. *C. globosum* входит в состав коммерческого препарата Кетомиум (Ketomium), который сдерживает рост патогенов многих значимых сельскохозяйственных культур, в том числе томатов (Soytong et al., 2001). В России Кетомумиум не зарегистрирован, применяется в некоторых странах Азии. *Clonostachys sp.*- микроорганизм из семейства Bionectriaceae. Представители рода *Clonostachys* широко используются в биотехнологических приложениях. Показана биоцидная активность *Clonostachys* против нематод (da Silva et al., 2015), против

некоторых грибных фитопатогенов (Borges et al., 2015). В связи с этим была проверена антагонистическая активность *Clonostachys sp.* и *C. globosum* к найденным штаммам *A. alternata* и *F. equiseti*. При попарном размещении грибов на чашку Петри с агаризованной средой *Clonostachys sp.* оказывал тормозящее влияние на *A. alternata*. Колония *A. alternata* имела неравномерный рост с заметным замедлением роста по направлению к *Clonostachys sp.* По отношению к *F. equiseti* *Clonostachys sp.* проявлял микофагную активность. Изученный штамм *C. globosum* не оказывал заметного влияния на *A. alternata* и *F. equiseti*.

Поскольку эти грибы были выделены с пораженных томатов, мы оценили их способность развиваться на ломтиках томата и целых плодах, помещенных во влажную камеру. Согласно нашим исследованиям *Clonostachys sp. C. globosum* не способны поражать целые плоды томата, тогда как на разрезанных плодах развиваются. На 7 день после заражения на ломтиках томата образовалось поражение размером $1,8 \pm 0,2$ см (*Clonostachys sp.*) и $1,5 \pm 0,3$ см (*C. globosum*). По-видимому, *Clonostachys sp.* и *C. Globosum* могут паразитировать на плодах томата при возникновении трещины на их поверхности.

Список литературы

1. Akbar A, Hussain S, Ullah K, Fahim M, Ali GS. Detection, virulence and genetic diversity of Fusarium species infecting tomato in Northern Pakistan. PLoS One. 2018 Sep 20;13(9):e0203613. doi: 10.1371/journal.pone.0203613.eCollection2018.
2. Elansky, S.N., Shkunkova, T.A., Chudinova, E.M. et al. First report of Phomopsis phaseoli on tomato. J Plant Pathol 102, 263–264 (2020). <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00403-6>
3. Soytong, K; Kanokmedhakul, S; Kuknogviriyapa, V; Isobe, M (2001). "Application of Chaetomium species (Ketomium) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article". Fungal Diversity. 7: 1–15
4. da Silva ME, Braga FR, de Givès PM, Uriostegui MA, Reyes M, Soares FE, de Carvalho LM, Rodrigues FB, de Araújo JV. Efficacy of Clonostachys rosea and Duddingtonia flagrans in Reducing the Haemonchus contortus Infective Larvae. Journal of Biomedicine and Biotechnology 2015(22) DOI: 10.1155/2015/474879
5. Borges, Á.V., Saraiva, R.M. & Maffia, L.A. Biocontrol of gray mold in tomato plants by Clonostachys rosea. Trop. plant pathol. 40, 71–76 (2015). <https://doi.org/10.1007/s40858-015-0010-3>

ПОРАЖЕНИЕ ЯРОВОГО РАПСА АЛЬТЕРНАРИОЗОМ В ПОГОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Шпанев А.М.

Агрофизический НИИ, Санкт-Петербург
Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

В последние годы рапс становится все более привлекательной и востребованной у сельхозтоваропроизводителей культурой, что подтверждается ежегодными сводками значительного роста посевных площадей на территории Российской Федерации. Схожую тенденцию можно отметить и для Северо-Западного региона, где преимущественно возделывается яровая форма рапса. В 2016 г. посевные площади ярового рапса в Псковской, Ленинградской и Новгородской областях достигли 1,56, 1,3 и 0,26 тыс. га, а озимого — 0,42, 0,15 и 0 тыс. га соответственно (Гулятьева и др., 2017). Как следствие, происходит увеличение распространенности и интенсивности развития болезней этой культуры, среди которых наибольшее хозяйственное значение имеет альтернариоз (Гасич и др., 2009).

Как показали наши многолетние наблюдения, проводимые в агроэкологическом стационаре Меньковского филиала Агрофизического НИИ (Ленинградская область, Гатчинский район) начиная с 2012 года, Северо-Западный регион потенциально может вполне относиться к зоне высокой вредоносности альтернариоза рапса, что подтверждается регулярными случаями сильного поражения культуры данным заболеванием и большими потерями урожая. Особенно сложная ситуация с альтернариозом складывается на небольших по площади севооборотах, где поля не имеют значительного удаления друг от друга и между ними осуществляется постоянный перенос инфекции. Еще можно отметить насколько быстро происходит накопление возбудителя болезни и его распространение в пределах севооборотной площади. В первый год возделывания ярового рапса развитие альтернариоза на стручках независимо от минерального питания растений не превышало 5%, а уже на следующий год оно увеличилось в 2 раза. На третий год развитие болезни варьировало в пределах посева от 16,8 до 31,5%, а в последующие годы не опускалось ниже 20% с максимальными показателями на уровне 35–40%. Не оказался исключением и 2018 год, когда наблюдались нетипичные для Северо-Западного региона крайне засушливые погодные условия на протяжении большей части периода вегетации ярового рапса. В таких условиях на посевах рапса, расположенном в непосредственной близости с агроэкологическим стационаром, альтернариоз проявился значительно позднее обычных сроков, исключительно на стручках и в слабой степени. Развитие данного заболевания в фазу желто-зеленой спелости ярового рапса составило 0,5%, в фазу желтой спелости — 1,9%. И даже в таких неблагоприятных погодных условиях отмечалось сильное поражение альтернариозом ярового рапса на агроэкологическом стационаре. Развитие болезни в фазу желтой спелости стручков достигло 27,1%.

В 2019 г. засушливые погодные условия на протяжении всего июня месяца, когда сумма выпавших осадков составила только 13,7% от среднегодовой нормы, неблагоприятным образом повлияли на

начальное развитие альтернариоза, сдвинув его на более поздние сроки. Первые признаки заболевания проявились на растениях к концу цветения. Выпадение большого количества осадков в июле на фоне повышенных среднесуточных температур и достаточного увлажнения в августе привело к значительному усилению развития альтернариоза. В период созревания рапса, приходящегося на сентябрь, ситуация с данным заболеванием усугубилась еще более. Развитие альтернариоза на стручках в фазу налива семян составило 0,8%, а через 18 дней в фазу желто-зеленой спелости ярового рапса увеличилось до 28,3%, в фазу желтой спелости достигло 55,7%.

Среди факторов, в значительной степени влияющих на развитие альтернариоза на посевах ярового рапса, большое значение имеет срок сева культуры, которым определяется период и сроки созревания. При ранних сроках сева, приходящихся на первую декаду мая, полное созревание ярового рапса отмечается в третьей декаде августа — первой декаде сентября. При поздних сроках сева, осуществляемых в третьей декаде мая, созревании культуры смещается на сентябрь, а уборка может проводиться и в начале октября. В таких условиях, сопровождающихся частым выпадением осадков и пониженным температурным режимом, период созревания культуры значительно удлиняется, а поражение альтернариозом многократно усиливается. Яркий пример тому 2019 г., когда посев рапса проводился 20 мая, уборка — 29 сентября, сумма выпавших осадков в сентябре превысила среднегодовой показатель на 90,3%, а итоговое развитие болезни достигло 55,7%.

Существенное влияние на развитие альтернариоза оказывает уровень обеспеченности растений ярового рапса основными элементами питания. По нашим данным, на вариантах с предпосевным внесением средних ($N_{65}P_{50}K_{50}$) и высоких ($N_{100}P_{75}K_{75}$) доз минеральных удобрений отмечалось в 1,5 раза более сильное развитие заболевания, чем на неудобренных делянках. При этом отсутствовали достоверные различия в пораженности растений альтернариозом между высоко и среднеудобренными вариантами. Такая ситуация устойчиво фиксировалась нами на протяжении всего периода наблюдений.

Еще одно условие, способствующее усилению развития альтернариоза, связано с тем, что в Северо-Западном регионе, в сравнении с традиционными регионами возделывания рапса, по-прежнему не принято проводить обработку посевного материала фунгицидными препаратами. За счет семенной инфекции и благоприятных погодных условий после посева культуры симптомы характерные для альтернариоза могут проявляться уже на всходах и двух настоящих листьях рапса. В этом случае возникает высокая вероятность сильного поражения листового аппарата и репродуктивных органов растений в более ранние сроки, что приведет к значительным потерям урожая.

Ориентировочное представление о вредоносности альтернариоза на яровом рапсе в условиях Ленинградской области было получено нами из опытов с применением фунгицидов по вегетирующим растениям. Так, при слабом развитии альтернариоза величина сохраненного урожая семян рапса от разового применения фунгицида Колосаль Про, КМЭ составила 8%. При сильном развитии заболевания на делянках с однократной фунгицидной обработкой в зависимости от эффективности применяемого препарата (Колосаль Про, КМЭ; Титул 390, ККР; Прозаро, КЭ; Амистар Экстра, СК) была получена урожайность на 16–53% более высокая, чем на необработываемом контроле. Масса 1000 семян, как основной показатель при оценке вредоносности альтернариоза, в зависимости от степени проявления болезни снижалась на контроле на 3–18%.

Таким образом, агроэкологический стационар МФ АФИ, на котором ежегодно наблюдается сильное поражение ярового рапса альтернариозом, представляет собой мощную экспериментальную базу для дальнейшего

изучения многолетней и сезонной динамики развития болезни, влияния на нее агротехнических и защитных мероприятий, а также разработки научных основ и апробации полученных результатов в области дистанционного зондирования данного заболевания, применительно к условиям Северо-Запада России (Шпанев, 2019).

Список литературы

1. Гульяева Е.И., Гасич Е.Л., Левитин М.М. и соавт. Болезни зерновых культур и рапса в Северо-Западном регионе в 2016 г. // Защита и карантин растений. — 2017. — № 4. — С. 27–29.
2. Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Бекиш Л.П. Грибные болезни рапса в Северо-Западном регионе // Земледелие. — 2009. — № 2. — С. 38–40.
3. Шпанев А.М. Экспериментальная база для дистанционного зондирования фитосанитарного состояния агроэкосистем на Северо-Западе РФ // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. — 2019. — Т. 16. — № 3. — С. 61–68.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ ПШЕНИЦЫ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Сколотнева Е.С., Кельбин В.Н., Морозова Е.В.

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН

Современное состояние исследований возбудителя стеблевой ржавчины злаков *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* у нас в стране характеризуется отсутствием интегрированного анализа расового состава популяций гриба. Между тем, патоген занимает сейчас одно из первых мест в фитопатогенном комплексе мягкой пшеницы Западной Сибири [1]. Более того, появляются сообщения об эпифитотийном развитии стеблевой ржавчины в сопредельных областях Казахстана (Костанайской и Северо-Казахстанской) [2], что повышает необходимость целенаправленной работы по изучению расового состава популяций *P. graminis* f. sp. *tritici* в Западной Сибири.

Основной задачей исследования являлся фитопатологический анализ образцов популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* Западной Сибири с целью выяснения вероятного источника инфекции и основных путей миграции патогена по территории Сибири.

Материалом послужили образцы инфекции, собранные в 2017–2018 гг в трех соседних областях Западной Сибири: Омской, Новосибирской и Алтайском крае. Для выяснения состава генов вирулентности выделенных монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*, а также установления их расовой принадлежности использовалось фитопатологическое тестирование материала на международном наборе из 20 пшеничных линий-дифференциаторов, несущих гены устойчивости к стеблевой ржавчине (Sr, stem rust) [3].

В результате анализа 116 монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* описано 33 различных расы, образующих вирулентный профиль западно-сибирской популяции. Большинство изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici*

оказалось вирулентно к линиям с генами *Sr5*, *Sr9a*, *Sr9b*, *Sr9g*, *Sr10*, *Sr38*, *SrMcN*, и авирулентно к линиям с генами *Sr24*, *Sr30*, *Sr31*. Выявлены гены устойчивости пшеницы, способные дифференцировать западно-сибирскую популяцию патогена *P. graminis* f. sp. *tritici* в ее широком понимании: *Sr6*, *Sr7b*, *Sr8a*, *Sr9b*, *Sr9d*, *Sr9e*, *Sr11*, *Sr17*, *Sr21*, *Sr36*, *Sr30* и *SrTmp*.

Расовый состав выборки образцов инфекции в Новосибирской области, полученных в 2017 и 2018 гг, представлен доминантной расой ТКРРФ, отличающейся высокой степенью вирулентности (к генам *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr17*, *Sr9a*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr38*, *SrMcn*), и близкородственными расами, полиморфными по признаку вирулентности только к 1–3 генам устойчивости. Важно отметить изменения в расовом составе: в образцах 2018 года не обнаружено рас QCRSF и QCHSF, частота которых в выборке 2017 г. приближалась к доминантной. Для расы LKCSF выявлено увеличение частоты встречаемости с 6% до 25%.

Для сравнения расового состава образцов новосибирской популяции *P. graminis* f. sp. *tritici* с образцами омской и алтайской популяций патогена был использован кластерный анализ, выполненный с помощью пакета статистических программ PAST3 (Multivariate Software). При кластерном анализе большинство ранних рас из образцов новосибирской инфекции 2017 г., включая доминантный патотип QCHSF, объединяются с расами, зарегистрированными в том же году в Омской обл. Расы поздней инфекции кластеризуются преимущественно вместе с расами, идентифицированными в образцах популяции Алтайского края в 2017 г. [4].

При сравнительном анализе образцов инфекции 2018 г., собранных нами в различных областях Западной Сибири, расы из новосибирской выборки также распределяются по кластерам, содержащим образцы алтайского либо омского происхождения.

Выводы. Таким образом, результаты кластерного анализа расового состава гриба-патогена позволяют говорить об омской и алтайской субпопуляциях с независимыми источниками генетического разнообразия и зоной соприкосновения и перемешивания на пшеничных посевах Новосибирской области, а также о существовании западно-сибирской популяции *P. graminis* f.sp. *tritici* на обширном ареале (Омская область, Новосибирская область, Алтайский край). На основе сравнения расового состава можно предположить происхождение некоторых рас в образцах новосибирской инфекции: доминантная раса TKRPF и раса MLLTE, вероятно, мигрируют из Омской области, близкородственные расы QCRSF, QCHSF, NFMSE, LKCSF, LKMSE, PKCSF, LKCSF, вероятно, мигрируют из Алтайского края.

Работа поддержана РФФИ № 17-29-08018 и бюджетным проектом 0259-2019-0001-С-01.

Список литературы

1. Шаманин В.П., Моргунов А.И., Петуховский С.Л., Лихенко И.Е., Левшунов М.А., Салина Е.А., Потоцкая И.В., Трущенко А.Ю. // Селекция яровой мягкой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине в Западной Сибири: монография. — Изд-во ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина, 2015. — 152 с.
2. Рсалиев Ш.С. Вирулентность новых патотипов стеблевой ржавчины в Казахстане // Вторая Всерос. конф. «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». Санкт-Петербург, 29 сентября — 2 октября 2008. СПб: Инновационный центр защиты растений, 2008. С. 87–90
3. Скологнева Е. С., В. Н. Кельбин В. Н., Моргунов А. И., Бойко Н. И., Шаманин В.П., Салина Е. А. Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Микология и фитопатология 2020. 54 (1): 49–58, DOI:10.31857/S0026364820010092
4. Shamanin V.P., Zelenskiy Y., Kokhmetova A., Patpour M., Novmøller M., Olivera P., Szabo L., Jin Y., Meyer M., Gilligan C., Hort M., Hodson D., Morgunov A. Large scale wheat stem rust outbreaks in Western Siberia/ Northern Kazakhstan in 2015–2017. In: Bourlaug Global Rust Initiative 2018. Morocco, 2018.

ПОРАЖЕНИЕ КАРТОФЕЛЯ АЛЬТЕРНАРИОЗОМ НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ

Смук В.В.

Агрофизический НИИ, Санкт-Петербург
ВНИИ защиты растений, Санкт-Петербург

В настоящее время в связи с потеплением климата наблюдается значительное общеевропейское расширение ареала вредоносности альтернариоза на посадках картофеля. При благоприятных метеоусловиях, сопровождающихся как низкой обеспеченностью почв азотом, так и наличием в используемом семенном материале вирусной и ризоктониозной инфекции данное заболевание во многих регионах нашей страны регистрируется ежегодно и может сопровождаться существенными потерями урожая клубней картофеля (Козловский, Филиппов, 2007). В столь сложной ситуации наиболее целесообразной стратегией сдерживания развития альтернариоза в посадках картофеля признано своевременное проведение комплекса агротехнических мероприятий в сочетании с многократными фунгицидными обработками агроценозов.

Северо-Запад России не относится к зоне высокой вредоносности альтернариоза картофеля, однако в ходе наших многолетних (2012–2019 гг.) наблюдений, проводимых на агроэкологическом стационаре Меньковского филиала Агрофизического НИИ (Ленинградская обл., Гатчинский район) данное заболевание в разной степени интенсивности фиксировалось на растениях картофеля практически ежегодно. За весь период исследований альтернариоз полностью отсутствовал в картофельном агроценозе только в 2013 году, вследствие позднего срока посадки (12 июня) и раннего (перед смыканием рядков) появления фитофтороза в карто-

фельном агроценозе, которым в период формирования клубней уже было уничтожено 75% листовой поверхности (Шпанев, Смук, 2017).

Степень проявления альтернариоза на посадках картофеля во многом обусловлена метеоусловиями, складывающимися в период вегетации культуры. При этом наблюдается тенденция эффективного сдерживания заболевания на низком уровне при наличии типичных значений тепло- и влагообеспеченности, характерных для нашей климатической зоны. Подобная ситуация фиксировалась в 2017 году, в котором сумма активных температур и количество выпавших осадков за вегетационный период находились на уровне средне многолетних значений. Развитие альтернариоза на момент проведения десикации составило 2,5%, что соответствует слабой степени поражения посадок. В 2012, 2014–2015 гг. развитие альтернариоза в картофеле имело умеренный характер и варьировало в пределах 11–20%. Сильное поражение растений картофеля альтернариозом было зарегистрировано в 2019 году, характеризовавшимся экстремально низкими условиями увлажнения на стадии раннего развития возделываемой культуры. Итоговое развитие болезни составило 35%. Несмотря на избыточное увлажнение, сильное развитие болезни наблюдалось и в 2016 году, когда в фазу цветения картофеля оно соответствовало 39,4%. Дальнейшего развития болезнь не получила вследствие стремительного

распространения в посадках фитофтороза и ранней гибели вегетативной массы растений.

Наиболее сильное поражение посадок картофеля альтернариозом отмечалось в 2018 году, чему способствовало как практически полное отсутствие осадков в июне, так и повышенный температурный фон второй половины июля и начала августа, который существенно превосходил среднегодовалые показатели. Появление первых симптомов заболевания отмечалось достаточно рано. Так, в фазу цветения картофеля развитие заболевания фиксировалось на уровне 14%. Вследствие благоприятных вышеперечисленных погодных факторов к фазе роста клубней данный показатель повысился до 25%, а на момент проведения десикации достиг 53% при 100% поражении растений в посадках.

Таким образом, помимо погодных условий существенное значение для степени проявления и длительности присутствия альтернариоза в посадках картофеля имеет скорость развития в них такого заболевания как фитофтороз. В годы его эпифитотии, отмеченной во время вегетаций 2013 и 2016 гг., развитие альтернариоза заканчивалось практически сразу после цветения вследствие полной гибели растений от фитофтороза.

Из литературы хорошо известно о сдерживающем влиянии повышенных доз азотных удобрений на развитие альтернариоза в посадках картофеля (Шалдаев, 2000). Данная закономерность нашла свое статистическое подтверждение и в ходе наших исследований (Шпанев, Смук, Фесенко, 2017). При этом наиболее сильная степень присутствия альтернариоза ежегодно наблюдалась на участке опыта без внесения минеральных удобрений. Первые симптомы заболевания отмеча-

лись здесь на 7–10 дней раньше, чем это фиксировалось на удобренных вариантах опыта. Положительное влияние высокой дозы полного минерального удобрения с содержанием 100 кг д.в./га азота на снижение развития альтернариоза в посадках картофеля наиболее существенно проявилось на момент проведения десикации. Итоговое развитие заболевания на неудобренном ($N_0P_0K_0$), среднеудобренном ($N_{65}P_{50}K_{50}$) и высокоудобренном ($N_{100}P_{75}K_{75}$) вариантах опыта в среднем по годам составило 34, 24 и 19%.

Таким образом, наблюдаемое в отдельные годы периодическое повышение пораженности растений картофеля альтернариозом требует постоянного мониторинга и контроля развития заболевания. Последнее подразумевает внесение повышенных доз азотных удобрений и применение эффективных схем химической защиты с помощью фунгицидов.

Список литературы

1. Козловский Б.Е., Филиппов А.В. Альтернариоз на картофеле становится более вредоносным // Защита и карантин растений. — 2007. — № 5. — С. 12–13.
2. Шпанев А.М., Смук В.В. Эпифитотии развития фитофтороза на картофеле в Северо-Западном регионе // Современная микология в России. — Т. 7. — М., 2017. — С. 113–114.
3. Шалдаев Е.М. Болезни и вредители картофеля: сорта, способы усовершенствованного размножения картофеля. — Новосибирск. — 2000. — 57 с.
4. Шпанев А.М., Смук В.В., Фесенко М.А. Фитосанитарный эффект применения минеральных удобрений на посадках картофеля в Северо-Западном регионе // Агрохимия. — 2017. — № 12. — С. 38–45.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФУНГИЦИДОВ ИЗ ГРУППЫ СТРОБИЛУРИНОВ И ТРИАЗОЛОВ В БОРЬБЕ С *CERCOSPORA BETICOLA* САХАРНОЙ СВЕКЛЫ НА ЮГЕ РОССИИ

Таранчева О.В., Волкова Г.В.

ВНИИ биологической защиты растений, Краснодар

Проведено изучение эффективности двух фунгицидов из группы стробилуринов и триазолов против церкоспороза сахарной свеклы. Установлено, что их биологическая эффективность составила 80,2% и 65,8% соответственно при эпифитотийном развитии церкоспороза (69,1%). Применение фунгицида на основе азоксистробина (200г/л) и ципроконазола (80г/л) обеспечило прибавку урожая сахарной свеклы 99,0 ц/га (25,8%), а препарата на основе трифлуксизробина (375 г/л) и ципроконазола (160 г/л) — 67,5 ц/га (17,6%).

Ключевые слова. Церкоспороз, *Cercospora beticola*, сахарная свекла, фунгициды, эффективность

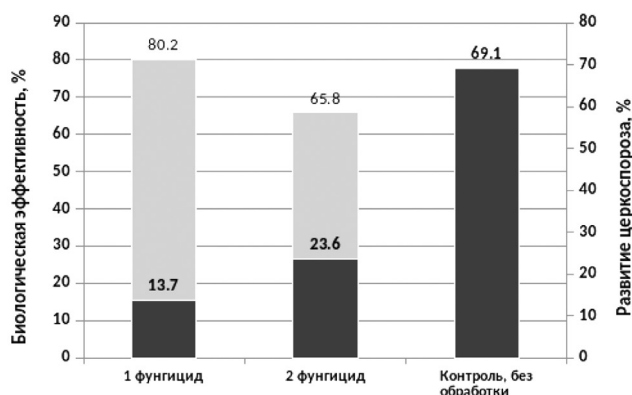
В структуре посевных площадей основных свеклосеющих районов субъектов России сахарная свекла занимает от 8 до 18% пашни [1]. Научно обоснованное соблюдение системы возделывания в сочетании с защитой культуры современными фунгицидами позволяет улучшить ее производственные и качественные показатели. Но существуют факторы, влияющие на фи-

тосанитарное состояние посевов, на интенсивность роста и урожайность сахарной свеклы [2].

Наиболее распространенной, вредоносной и экономически значимой среди болезней сахарной свеклы считается церкоспороз, возбудителем которого является факультативный сапротроф *Cercospora beticola* [3]. Церкоспороз свеклы снижает выход сахара до 50%. Одновременно патоген поражает зрелые листья, нарушая фотосинтетическую активность и азотистый обмен. В России церкоспорозная пятнистость листьев встречается во всех регионах свекловодства, но наибольший ущерб причиняет в южных регионах возделывания культуры — Краснодарском и Ставропольском краях, Ростовской области, что связано с благоприятными климатическими условиями для развития патогена в вегетационный период [4].

Из-за масштабов применения химических пестицидов происходит формирование резистентности вредных объектов к химическим действующим веществам.

Рисунок — Развитие церкоспороза и биологическая эффективность фунгицидов группы стробилуринов и триазолов, гибрид Оксана КВС, опытное поле ВНИИБЗР, Краснодарский край, 2019 г.



Выявленные штаммы *Cercospora beticola* имеют устойчивость к основным группам фунгицидов с действующими веществами: бензимидазол, беномил, карбендазим, дифенканазол, азоксистробин и др. [5]. Поэтому изучение эффективности фунгицидов из различных химических классов в технологиях защиты сахарной свеклы для увеличения производства и сохранения продукции очень важно [6].

Целью работы явилось изучение эффективности фунгицидов из группы стробилуринов и триазолов против церкоспороза сахарной свеклы в условиях центральной зоны Краснодарского края.

Исследования проводили в вегетационный сезон 2019г. в полевых условиях ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений», г. Краснодар на сахарной свекле, гибрид Оксана КВС. Предшественник — озимая пшеница. В вегетационный период сахарной свеклы сложились оптимальные условия для развития патогена: температура днем — 25–30 °С, ночью — 15–20°С, влажность воздуха выше 70%. Для изучения были использованы два фунгицида, относящиеся к химическим классам стробилурины и триазолы. В первом препарате действующее вещество: азоксистробин (200 г/л) + ципроконазол (80 г/л), во втором — трифлуксистробин (375г/л) + ципроконазол (160 г/л). Первую обработку фунгицидами проводили при появлении признаков заболевания в фазу смыкания листьев в междурядьях; последующую —

через 14 дней. После обнаружения заболевания проводили в динамике учет интенсивности поражения. Учеты проводили по девятибалльной шкале поражения церкоспорозом [3].

Учеты были проведены: 12.07, 22.07, 01.08, 11.08, 21.08, 31.08, 10.09.2019 года. Развитие болезни на дату максимального проявления составило 69,1% (10.09.19г.).

Развитие церкоспороза сахарной свеклы и биологическая эффективность изучаемых фунгицидов в фазу наступления технической спелости (39 стадия ВВСН, 10 сентября) представлена на рисунке, где 1-й фунгицид с д.в. азоксистробин (200 г/л) + ципроконазол (80 г/л); 2-й фунгицид с д.в. трифлуксистробин (375г/л) + ципроконазол (160 г/л).

При применении фунгицидов наблюдалось существенное снижение развития патогена. Степень развития церкоспороза в варианте с азоксистробин (200г/л) + ципроконазол (80г/л) в норме применения 1,0 л/га на момент первой обработки (12.07.19г.) составила 1,2%; на 10.09.19г. (дата последнего учета) — 13,7%. В варианте с действующим веществом трифлуксистробин (375 г/л) + ципроконазол (160 г/л) в норме применения 0,3 л/га развитие патогена составило на 12.07.19г. (в момент первой обработки) — 0,7%; на 10.09.19г. (дата последнего учета) — 23,6%. Эффективность против церкоспороза на сахарной свекле 1-го фунгицида на 10.09.2019 г. составила 80,2%; 2-го — 65,8% (рис.).

Анализ структуры урожая проводили по показателям массы 1 корнеплода и урожайности. Тенденция по массе 1 корнеплода была следующей: 965 г — препарат с действующим веществом азоксистробин (200г/л) + ципроконазол (80г/л) при норме применения 1,0 л/га; 902 г — препарат с действующим веществом трифлуксистробин (375 г/л) + ципроконазол (160 г/л) при норме применения 0,3 л/га; в контроле (без обработки) — 767 г (таблица). Урожайность сахарной свеклы в варианте с обработкой 1-м фунгицидом составила 482,5 ц/га; в варианте с обработкой 2-м фунгицидом — 451,0 ц/га; в контроле (без обработки) — 383,5 ц/га.

Полученные данные подтверждают эффективность фунгицидов из химических классов стробилуринов и триазолов в борьбе с церкоспорозом сахарной свеклы. Высокая биологическая и хозяйственная эффективность препаратов с действующим веществом азоксистробин (200г/л) + ципроконазол (80г/л) при норме применения 1,0 л/га и трифлуксистробин (375 г/л) + ципроконазол (160 г/л) при норме применения 0,3 л/га дает основание рекомендовать их для включения в

Таблица — Хозяйственная эффективность фунгицидов группы стробилуринов и триазолов против церкоспороза сахарной свеклы, гибрид Оксана КВС, опытное поле ВНИИБЗР, Краснодарский край, 2019 г.

Вариант опыта	Норма применения, л/га	Масса 1 корнеплода			Урожайность		
		г	Прибавка к контролю		ц/га	Прибавка к контролю	
			г	%		ц/га	%
Контроль (без обработки)	—	767,0	—	—	383,5	—	—
Азоксистробин (200 г/л) + ципроконазол (80 г/л)	1,0	965,0	198,0	25,8	482,5	99,0	25,8
Трифлуксистробин (375 г/л) + ципроконазол (160 г/л)	0,3	902,0	135,0	17,6	451,0	67,5	17,6
НСР05		31,7			15,1		

интегрированную систему защиты сахарной свеклы в условиях юга России.

Список литературы

1. Иванов Е.И. Лента новостей ИКАР. Итоги года 2018. Сахар и свекла [Электронный ресурс] // Институт конъюнктуры аграрного рынка. URL: <http://ikar.ru/lenta/671.html> (дата обращения: 27.02.2020г).
2. Волкова Г.В., Таранчева О.В., Мирошниченко О.О., Гвоздева М.С. Эффективность биологического фунгицида БФТИМ КС-2, Ж против церкоспороза сахарной свеклы/В сборнике: Инновационные технологии в науке и образовании (ИТНО-2019) сборник трудов VII Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ДГТУ (РИСХМ). 2019. -С. 302–305.
3. Попкова К.В. Общая фитопатология. / К.В. Попкова — М.: Дрофа, 2005. — С. 445.
4. Стогниенко О.И., Воронцова А.И., Стогниенко Е.С. Биологическая эффективность применения фунгицидов и их баковых смесей против церкоспороза сахарной свеклы // Мат. между. науч. практ. конф. «Инновационные технологии и технические средства АПК». — Воронеж, 2016. — С. 84–86.
5. Стогниенко О.И. Патокомплексы микобиоты сахарной свеклы и методы снижения их вредоносности в ЦЧР России: диссертация ... доктора биологических наук: 06.01.07. Место защиты: ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева», 2018. — С. 278.
6. Стогниенко О.И. Как провести полный комплекс фунгицидных обработок в посевах сахарной свеклы снизив затраты и пестицидную нагрузку// Сахарная свекла. — 2016 (а). — № 2 — С. 36–37.

ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ *METARHIZIUM ROBERTSII* И *BAEUVERIA BASSIANA* НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОЛОНИЗИРУЕМЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Томилова, О.Г.¹, Ефимова, М.В.², Глунов, В.В.¹

¹Институт Систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Национальный исследовательский Томский государственный университет

В 2000-х годах было получено значительное количество экспериментальных подтверждений способности энтомопатогенных грибов к колонизации растений. Большинство работ сосредоточено на исследовании эндофитных свойств аскомицетов *Metarhizium* и *Beauveria*, что связано с их широким распространением и активным использованием для биологической регуляции численности растительноядных и кровососущих насекомых. Установлено, что грибы *Metarhizium* и *Beauveria* находятся в мутуалистических взаимоотношениях с растениями, выступая поставщиками азота, производителями вторичных метаболитов, промоторами роста, антагонистами грибных и вирусных фитопатогенов, иммуномодуляторами [1–8]. При этом, предполагается, что грибы получают выгоду от растений через защиту от окружающих стрессовых воздействий (например, солнечной радиации), а также получение питательных веществ и использование растения как платформы для паразитизма на насекомых. Во многих работах показано изменение в развитии и выживаемости насекомых на растениях, колонизированных энтомопатогенами, хотя эти данные противоречивы для разных паразит-хозяинных систем [3,9,10]. Несмотря на повышенный интерес исследователей к данной теме до сих пор остается неясным, насколько стабильны мутуалистические взаимоотношения энтомопатогенных грибов и растений, и каким образом данная колонизация сказывается на физиологических реакциях растений-хозяев, их восприимчивости к паразитическим организмам.

В связи с этим нами проведено исследование влияния энтомопатогенных грибов *M. robertsii* и *B. bassiana* на ростовые показатели и защитные реакции

Solanum tuberosum в гидропонных условиях. Исследования проводили на растениях картофеля сорта «Невский», полученных из безвирусных растений — регенератов, микроклонированных *in vitro*. Корневую систему растений помещали в питательный раствор Мурасиге и Скуга с половинным содержанием макро- и микроэлементов (0,5 МС) с добавлением конидий исследуемых энтомопатогенных грибов (1×10⁶ спор/мл). Реакцию растений на присутствие конидий грибов в питательной среде исследовали через 7 суток. В качестве основных ростовых показателей оценивали сырую и сухую биомассу надземной и подземной частей растений, линейные размеры побега и корня, площадь листовой поверхности, количество ярусов и столонов. Из физиологических параметров выбраны уровень фотосинтетических пигментов, содержание пролина, активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы (ПО)) и продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида (МДА)). Пробоподготовку и определение оцениваемых показателей проводили по методикам, описанным ранее [11].

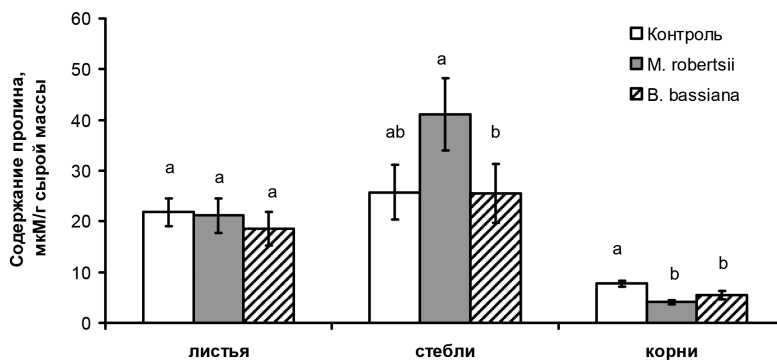
Недельное культивирование растений в присутствии энтомопатогенных грибов не оказало значительного влияния на массу, площадь листовой поверхности и линейные размеры опытных растений. Под влиянием *M. robertsii* отмечено достоверное увеличение количества ярусов ($P = 0,032$) и зачатков формирующихся столонов ($P = 0,012$), штамм *B. bassiana* достоверно ингибировал формирование ярусов ($P = 0,018$).

Установлено, что при взаимодействии растений картофеля с грибами происходит увеличение интенсивности окислительного стресса, сопровождаемое

Таблица 1. Влияние внесения конидий энтомопатогенных грибов *M. robertsii* и *B. bassiana* (1×10^6 конидий/мл 0,5 МС) на активность антиоксидантных ферментов в листьях растений *Solanum tuberosum*

Вариант	Активность супероксиддисмутазы, усл. ед./мг белка	Активность пероксидазы, моль гваякола/мг белка, мин.
Контроль	712,63 ± 61,48 ^a	8,29 ± 1,08 ^a
<i>M. robertsii</i>	742,45 ± 116,16 ^a	16,83 ± 2,99 ^b
<i>B. bassiana</i>	1318,31 ± 124,27 ^b	12,58 ± 2,34 ^{ab}

Одинаковые буквы указывают на несущественные различия между вариантами (тест Фишера $P > 0,05$)

Рисунок — Влияние энтомопатогенных грибов на содержание пролина в листьях, стеблях и корнях *Solanum tuberosum*

Одинаковые буквы указывают на несущественные различия между вариантами (тест Данна, $P > 0,05$)

подъемом активности антиоксидантных ферментов. Отмечено достоверное повышение уровня МДА в листьях картофеля в присутствии *M. robertsii* ($p = 0,001$ в сравнении с контролем), тогда как *B. bassiana* не оказывала существенного влияния. Активность ПО в листьях при внесении конидий *M. robertsii* выросла в 2 раза ($p = 0,014$), при внесении конидий *B. bassiana* — в 1,5 раза ($p = 0,163$). Рост активности СОД в листьях картофеля отмечен при взаимодействии с *B. bassiana* (в 1,9 раза, $p = 0,004$ в сравнении с контролем), тогда как после обработки *M. robertsii* активность СОД существенно не изменялась ($p = 0,863$) (таблица).

На фоне роста активности защитных ферментов нами установлено достоверное снижение уровня пролина в корнях в присутствии обоих грибов ($P > 0,029$ в сравнении с контролем). Проллин является полифункциональной аминокислотой, которая может принимать участие в сложных интегральных процессах адаптации растений. Однако, роль пролина и его участие в процессах адаптации/устойчивости не всегда очевидна. В данном случае мы можем отметить наличие такого эффекта в области непосредственного контакта грибов с растением.

Также зарегистрировано достоверное снижение содержания основных фотосинтезирующих пигментов под воздействием *B. bassiana* в сравнении с *M. robertsii* (хлорофилл а — $P = 0,022$; хлорофилл в — $P = 0,028$). В варианте с *B. bassiana* отмечено достоверное снижение соотношения хлорофиллов к каротиноидам ($P = 0,008$) и подъем соотношения хлорофилла а к хлорофиллу в ($P = 0,034$) в сравнении с контролем, что может косвенно свидетельствовать о наличии стресса у растений в присутствии *B. bassiana*.

Таким образом, показано, что в условиях гидропоники кратковременное воздействие энтопатогенных грибов *M. robertsii* и *B. bassiana* на растения картофеля слабо влияет на ростовые показатели, но приводит к значительным реакциям со стороны иммунной системы растений. Такой эффект может быть связан с запуском ферментативной защиты на начальном этапе взаимодействия растений с грибами. Можно предположить что, стресс в растении, не превышает его адаптивных возможностей, а активизация защитной системы повышает устойчивость к патогенам.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) №19-14-00138.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) №19-14-00138.

Список литературы

1. Moonjely S., Barelli L., & Bidochka M.J. (2016). Insect Pathogenic Fungi as Endophytes. *Advances in Genetics*, 94, 107–135.
2. Bamisile B.S., Dash C.K. Akutse K.S., Keppanan R., & Wang L. (2018). Fungal Endophytes: Beyond Herbivore Management. *Frontiers in Microbiology*, 9, 544.
3. Vega F.E. (2018). The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia*, 110(1), 4–30.
4. Behie S., Zelisko P., & Bidochka M. (2012). Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. *Science*, 336, 1576–1577.
5. Ríos-Moreno A., Garrido-Jurado I., Resquín-Romero G., Arroyo-Manzanares N., Arce L. & Quesada-Moraga E. (2016). Destruxin A production by *Metarhizium brunneum* strains during transient endophytic colonisation of *Solanum tuberosum*. *Biocontrol Science and Technology*, 26(11), 1574–1585.

6. Jaber L.R., & Enkerli J. (2017). Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? *Biocontrol Science and Technology*, 27, 28–41.
7. Krell V., Unger S., Jakobs-Schoenwandt D., & Patel A.V. (2018). Endophytic *Metarhizium brunneum* mitigates nutrient deficits in potato and improves plant productivity and vitality *Fungal Ecology*, 34, 43–49.
8. Ownley B.H. Gwinn K.D. Vega F.E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 55, 113–128.
9. Jaber L.R., Araj S.-E. (2017). Interactions among endophytic fungal entomopathogens (Ascomycota: Hypocreales), the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae), and the aphid endoparasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 116, 53–61.
10. Branine M., Bazzicalupo A., & Branco S. (2019). Biology and applications of endophytic insect-pathogenic fungi. *PLoS Pathogens*, 15(7), e1007831.
11. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В. и соавт. (2018). Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению. *Физиология растений*, 65(3), 196–206.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ ПРОТИВ СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ (ВОЗБУДИТЕЛЬ *PYRENOPHORA TERES* F. SP. *TERES DRECHLER.*) В ФАЗУ ВСХОДОВ НА ЮГЕ РОССИИ

*Яхник Я.В., Таранчева О.В., Волкова Г.В.
ВНИИ биологической защиты растений, Краснодар*

Ячмень является одним из первых видов злаков, окультурирование которых началось более 10 тысяч лет назад и практически одновременно в разных странах и регионах началось возделывание данной культуры (Saltini, 1996; Козубовская и др., 2017). Посевные площади озимого ячменя в Российской Федерации за последние пять лет в среднем составили 541,6 тыс. га, из них на площадь посевов в Краснодарском крае приходится 25,7% (Бюллетени о состоянии сельского хозяйства, 2016–2019 гг.).

Важным аспектом при выращивании сельскохозяйственных культур является борьба с болезнями, а в последние десятилетия в мире и в России наблюдается на посевах злаков нарастание вредоносности гембиотрофных паразитов (Лашина, 2015; Астапчук, 2017). В исследованиях А.А. Донцовой отмечается, что сетчатая пятнистость ячменя (возбудитель — аскомицет *Pyrenophora teres Drechs.*) является наиболее вредоносной и опасной болезнью в Южном федеральном округе (Донцова, 2015). Стоит отметить тот факт, что с 1990–2000 годов на юге Российской Федерации среди заболеваний ячменя сетчатая пятнистость листьев стала преобладать. Ежегодные потери для озимого ячменя от сетчатой пятнистости листьев составляют от 15 до 50%, но особенно уязвимыми являются восприимчивые сорта (Хасанов, 1992). При оптимальных метеорологических условиях и поражении восприимчивых сортов на производственных и селекционных посевах распространенность патогена может достигать 100%, а развитие — 50–90% (Афанасенко, 1996).

Для успешного решения проблемы повышенной пестицидной нагрузки на сельскохозяйственную продукцию необходимо применять методы биологизированной защиты. Селекция сортов ячменя на устойчивость к поражению фитопатогенами требует проведения исследований генетической структуры популяции патогена. Известно, что гельминтоспориям свойственна большая изменчивость и быстрое приспособление к

новым сортам растений-хозяев, вследствие этого главной причиной увеличения частоты эпифитотий является процесс эволюции патогена, в результате которой образуются новые агрессивные расы и фенотипы возбудителя болезни. Поэтому актуально систематическое изучение эффективности генов устойчивости для использования селекционерами в создании устойчивых к фитопатогенам сортов (Афанасенко, 2000; Астапчук, Волкова, 2018). Изучение разнообразия структуры популяции по признаку вирулентности проводят с помощью стандартных наборов сортов-дифференциаторов (Афанасенко, 2000). Для условий Северного Кавказа исследователями рекомендовано использование в селекционных программах на устойчивость к сетчатой пятнистости три эффективных гена: *Rpt 1b*, *Rpt 5*, *Rpt 6* (Афанасенко, 2000; Астапчук, Волкова, 2018).

Методы исследования. Образцы ячменя, пораженные сетчатой пятнистостью, были собраны в 2019 году в результате маршрутных обследований производственных и селекционных посевов культуры на юге России (Краснодарский, Ставропольский края, Ростовская область). В условиях лаборатории была получена коллекция из 33 моноконидиальных изолятов *Pyrenophora teres*. Для выделения в чистую культуру использовали стандартные методики, гриб культивировали на морковно-свекольном агаре (Билай, 1982; Поликсенова и др., 2004). Для изучения устойчивости к *P. teres* сортообразцов ячменя с известными генами устойчивости растения выращивали на гидропонике до стадии проростков (фаза двух листьев), затем проводили инокуляцию (влажный период поддерживали с помощью полиэтиленовых изоляторов в течение 15–20 часов). Для приготовления инокулята *P. teres* использовали свежесобранную споросодержащую культуру, с поверхности которой лезвием соскребали мицелий и готовили водную суспензию. Оценку интенсивности поражения листьев ячменя сетчатой пятнистостью проводили по стандартной шкале Л. Бабаянц и др. (1988).

Таблица — Степень поражения сортов-дифференциаторов возбудителем сетчатой пятнистости ячменя, теплица, 2019 г.

Сорт (линия)								
Skiff	Prior	CI 9825	Canadian Lake Shore	c-8755	CI 5791	Harbin	c-20019	Harrington (Контроль)
Гены устойчивости								
Rpt4	N	Pt5, Rpt-1b+ Pt11,+Pt12	Pt2+Pt3	Pt6	Rpt-1b	Pt2	Pt24 + Pt25+ Pt26	-
Пораженность,%								
29	7	19	9	14	27	68	47	92

Результаты исследования. Средние значения степени поражения сортов-дифференциаторов моноконидальными изолятами возбудителя сетчатой пятнистости ячменя приведены в таблице.

Установлено, что гены устойчивости по эффективности к популяции возбудителя сетчатой пятнистости ячменя могут быть ранжированы следующим образом:

- эффективные гены и их комбинации (степень поражения 5–20%) — Prior (N), CI 9825 (Pt5, Rpt-1b+Pt11,+Pt12), Canadian Lake Shore (Pt2+Pt3), c-8755 (Pt6).
- слабоэффективные гены и их комбинации (степень поражения 21–30%) — Skiff (Rpt4), CI 5791 (Rpt-1b).
- неэффективные гены и их комбинации (степень поражения 31–90%) — Harbin (Pt2), c-20019 (Pt24 + Pt25+ Pt26).

Таким образом, эффективную защиту ячменя в фазу всходов от сетчатой пятнистости на юге России способны обеспечить гены устойчивости: N, Pt5, Rpt-1b+ Pt11+Pt12, Pt2+Pt3, Pt6, что важно учитывать в селекционной работе и при территориальном размещении сортов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ и Администрации Краснодарского края р_На-
ставник №19-416-235005*

Список литературы

1. Saltini A. I semi della civiltà: frumento, riso e mais nella storia delle società umane. — Bologna, 1996. — 182 p.
2. Козубовская Г.В. Сравнительная характеристика ярового ячменя разного эколого-географического происхождения // Научно-агрономический журнал. — 2017. — №1. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitel'naya-harakteristika-yarovogo-yachmenya-raznogo-ekologo-geograficheskogo-proishozhdeniya>
3. Бюллетени о состоянии сельского хозяйства [Электронный ресурс]. — URL: http://old.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/publications/catalog/doc_1265196018516
4. Лашина Н. М. Создание дигаплоидов ячменя как исходного материала для селекции сортов с групповой устойчивостью к болезням: дис. ... канд. биол. наук. — СПб, 2015. — 207 с.
5. Астапчук И. Л. Возбудитель сетчатой пятнистости листьев ячменя: биология, этиология, вирулентность, устойчивость растения — хозяина (краткий обзор) // Научный журнал КубГАУ. — 2017. — №127. — URL: <http://ej.kubagro.ru/2017/07/pdf/31.pdf>
6. Донцова А. А. Использование молекулярных методов селекции на устойчивость к сетчатой пятнистости ячменя (обзор) // Научный журнал КубГАУ. — 2015. — №113. — URL: <http://ej.kubagro.ru/2015/09/pdf/93.pdf>
7. Хасанов, Б.А. Определитель грибов — возбудителей «гельминтоспориозов» растений из родов *Bipolaris*, *Drechlera* и *Exserohilum*. — Ташкент, 1992. — 244 с.
8. Афанасенко О.С. Изменчивость популяций возбудителей гельминтоспориозных пятнистостей ячменя и генетический контроль устойчивости к *Pyrenophora teres* Drechs.: автореф. дис. ... док. биол. наук. — СПб: Всероссийский НИИ защиты растений, 1996. — С. 41.
9. Афанасенко О.С. Иммунологические основы селекции зерновых культур и картофеля на устойчивость к болезням / О.С. Афанасенко, М.М. Левитин, Л.А. Михайлова, В.А. Колобаев и авт. // Вестник защиты растений. — 2000. — № 1. — С. 3–10.
10. Астапчук И.Л. Оценка эффективности известных генов устойчивости к возбудителю сетчатой пятнистости листьев ячменя на юге России / И.Л. Астапчук, Г.В. Волкова // Сборник тезисов по материалам II научно-практической конференции молодых ученых Всероссийского форума по селекции и семеноводству «Русское поле 2018». — Краснодар, 2018. — С. 43.
11. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Справочник. — Киев, 1982. — 550 с.
12. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» / В.Д. Поликсенова, А.К. Храмцов, С.Г. Пискун// — Минск, 2004. — 44 с.
13. Бабаянц, Л. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах членах СЭВ / Л. Бабаянц, А. Мештерхази, Ф. Вехтер, Н. Неклеса и др.// — Прага, 1988 — С. 270–277.

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ

Current Mycology in Russia

Том 8

Выпуск 5.

Грибы – биодеструкторы

Глава 11.

Грибы – биодеструкторы

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.11

Volume 8

Issue 5.

Fungal biodegradation

Chapter 11.

Fungal biodegradation

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.11

Содержание выпуска 5

Глава 11. Грибы – биодеструкторы

ГРИБЫ НА ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛАХ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ КУБА Бобырева Т.В., Кривушина А.А., Avilleira G.P., Uzagawa Z., Batista M.G., Chamero-Lago D.	359
ПЛЕСНЕВОЕ ПОРАЖЕНИЕ КАРТОННЫХ КОРОБОК ДЛЯ ФАЗОВОЙ КОНСЕРВАЦИИ АРХИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ Гончарова И.А., Тригубович А.М., Арашкова А.А.	361
ИСПЫТАНИЯ ГРИБОСТОЙКОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ ВО ВСЕРОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ (ВКМ, ИБФМ РАН) Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Озерская С.М.	363
ОСОБЕННОСТИ ГРИБКОВОЙ БИОДЕСТРУКЦИИ ЗДАНИЙ ИСТОРИЧЕСКОЙ ЗАСТРОЙКИ Г. КАЗАНИ Халдеева Е.В., Глушко Н.И., Лисовская С.А., Хайдарова Г.Г.	365
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К ПОВЫШЕНИЮ ГРИБОСТОЙКОСТИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ Храмов Е.Н., Родин О.Н., Поклонский Д.Л.	367
ВЛИЯНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТОПЛИВНЫХ СИСТЕМ САМОЛЕТОВ, И ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ НА БИОКОРРОЗИЮ АЛЮМИНИЕВОГО СПЛАВА Д-16 Кривушина А.А., Козлов И.А., Вдовин А.И., Новиков А.А.	368
РОЛЬ ГРИБОВ В БИОПОВРЕЖДЕНИИ ТОПЛИВ Санджиева Д.А., Кутузова И.А., Бурова А.А., Еланский С.Н., Дедов А.Г.	369
ТЕСТОВЫЕ ШТАММЫ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ НА ГРИБОСТОЙКОСТЬ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Абсалямов С.Я.	371
ВОЗДЕЙСТВИЕ МИКРОБИОТЫ ПОЧВЫ НА ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ПОЛИЛАКТИД — ПОЛИЭТИЛЕН Подзорова М.В., Тертышная Ю.В.	376
ПОИСК СТЕРОИДТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ У ГРИБОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ Потапов М.П., Нураева Г.К., Стыценко Т.С., Карпова Н.В., Ядерец В.В., Жгун А.А.	378
ПРОДУКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ — ДЕСТРУКТОРАМИ ТЕХНИЧЕСКИХ ИЗДЕЛИЙ В УСЛОВИЯХ ТРОПИКОВ Семенова Т.А., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А., Карпов В.А., Иванова А.Е.	379
АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ФЕРМЕНТОВ МИКРОМИЦЕТОВ — ДЕСТРУКТОРОВ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А., Захарова Е.А., Карпов В.А., Иванова А.Е., Семенова Т.А.	381
БИОДЕСТРУКЦИЯ ПОЛИМЕРНОГО ВОЛОКНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКРОМИЦЕТОВ ПОЧВЫ Тертышная Ю.В., Попов А.А., Подзорова М.В.	382
ПОЛУЧЕНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО БИОДЕСТРУКТОРА ПОЖНИВНЫХ ОСТАТКОВ ПУТЕМ МУЛЬТИБИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ МОНО-, БИ- И ТРИКУЛЬТУРЫ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ Титова Ю.А., Новикова И.И., Краснобаева И.Л., Бойкова И.В.	384
ВКЛАД МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ В ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЧНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕТОННЫХ КОНСТРУКЦИЙ Яковлева Г.Ю., Сагадеев Е.В., Строганов Ю.Ф., Ильинская О.Н.	386
ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ С ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕЕ Жгун А.А., Потапов М.П., Авданина Д.А., Климкина К.М., Веселовский В.А., Любавская Е.А., Троян Е.В., Федоров Д.Е., Шитов М.В.	387
ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ ФУНГИЦИДОВ НА ОСНОВЕ АЛКИЛНУКЛЕОЗИДОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ 15–16 ВВ. ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ Жгун А.А., Нураева Г.К., Авданина Д.А., Негря С.Д., Шевченко О.В., Ясько М.В., Троян Е.В., Александрова Л.А., Любавская Е.А., Шитов М.В.	389

Глава 11.

Грибы – биодеструкторы

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.11

ГРИБЫ НА ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛАХ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ КУБА

Бобырева Т.В.¹, Кривушина А.А.¹, Avilleira G.P.², Uzagawa Z.², Batista M.G.², Chamero-Lago D.²¹Всероссийский научно-исследовательский институт авиационных материалов;²Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos, Республика Куба

Проблема биоповреждений материалов, в том числе авиационных, особенно остро стоит в странах с тропическим климатом. Среднегодовая температура 26 °С и высокая влажность создают идеальные условия для развития плесневых грибов на территории Республики Куба.

Материалы представляют для микроорганизмов своеобразную экологическую нишу. Состав ценоза микроорганизмов определяется не только природой субстрата, но и набором таких факторов как наличие и характер атмосферных и промышленных загрязнений, микофлора воздуха и почвы данного района [1]. Эти факторы определяют и степень адаптации повреждающих микроорганизмов к тому или иному материалу. Степень повреждения материалов может быть весьма различна — от незначительных изменений внешнего вида до глубокой деформации. Это могут быть пигментные пятна, вздутия, отслоение лакокрасочных покрытий, ухудшение электроизоляционных свойств материалов и др. Химические изменения субстрата происходят в основном за счет окислительных и гидролитических реакций. Также в роли агрессивного фактора могут выступать метаболиты грибов — органические кислоты, в том числе и кислоты трикарбонного цикла, перекиси, а также пигменты, которые образуются за счет использования грибами незначительных органических загрязнений на поверхности материала или за счет утилизации доступного субстрата, контактирующего с пораженным изделием [2].

Изучение видового разнообразия микроорганизмов особенно актуально для совершенствования как биоцидов, так и способов утилизации полимерных отходов. Повреждение материалов грибами, влияния на них факторов окружающей среды проводят в условиях, максимально приближенных к эксплуатационным. Именно в процессе эксплуатации материала и при натуральных испытаниях можно обнаружить не отмеченные ранее на авиационных материалах агрессивные виды грибов, которые появляются в результате процесса адаптации к новым субстратам [3]. Целью данной работы явилось изучение видового состава микромицетов на поверхности авиационных материалов, экспонировавшихся на территории Республики Куба.

Для проведения эксперимента была заложена микологическая площадка на территории Центра экологических исследований Сьенфуэгоса, Республика Куба. На микологической площадке согласно ГОСТ 9.053–75 были установлены 2 стенда для испытаний материалов.

Площадка характеризуется трехъярусной растительностью, типичной для данного региона, вблизи находится канава, сезонно наполняющаяся водой. Растительность охарактеризована по морфологическим признакам, состоит из 23 семейств, 57 родов и 63 видов. Наиболее часто встречаются представители семейств *Fabaceae*, *Malvaceae*, *Poaceae*. Почва микологической площадки характеризуется как филозем, имеет богатый гумусовым веществом темный поверхностный горизонт. Отдельно проводилось исследование заспоренности воздуха микологической площадки седиментационным методом с использованием агаризованного суслу и агаризованной среды Чапека.

В стенды были помещены следующие материалы: резиновая смесь на основе кремнийорганических соединений с добавлением антипирена (РКА), на основе силоксанового каучука (РСК), на основе бутил-нитрильного каучука низкой вязкости (РБН), на основе бутил-нитрильного каучука средней вязкости (РБС), тиоколовые герметики вулканизированные солями марганца (ГТМ), с содержанием хроматов (ГТХ), содержащий биоцидную добавку (ГТБ), пониженной вязкости (ГТВ), а также лакокрасочные покрытия — фторполиуретановая эмаль (ФПЭ), эпоксидно-фосфатная эмаль (ЭФЭ). Образцы материалов были изготовлены во Всероссийском научно-исследовательском институте авиационных материалов (ВИАМ). Каждый материал представлен в восьми повторностях. Пробы биологического материала были взяты с образцов спустя 7 месяцев экспозиции. Выделение грибов проводили методом отпечатка на агаризованную среду Чапека. Идентификацию проводили по морфолого-культуральным признакам. Распространенность видов микромицетов на материалах оценивали по показателям обилия (доля штаммов данного вида от общего числа изолированных штаммов) и частоты встречаемости (отношение числа образцов, на которых вид обнаружен, к общему числу образцов), индекс выровненности Пиелу (е) вычисляли по формуле: $e = N / \log_2 S$, где S — общее число видов на материале, N — значение индекса Шеннона [4].

При анализе заспоренности воздуха было выделено 13 видов микромицетов, среди которых 2 неидентифицируемых стерильных мицелия — темноокрашенные и светлоокрашенные мицелии без пружек и не образующие конидиального спороношения. В воздухе по показателю встречаемости доминировали *Mycelia sterilia* 1(19,47%), *Curvularia clavata* (14,85%), *C. lunata* (13,20%). Также были выделены известные грибы — агенты био-

повреждений такие как *Aspergillus flavus* (1,65 %), *Aspergillus niger* (6,27%), виды рода *Cladosporium*.

С поверхности материалов было выделено 13 видов грибов, среди которых два неидентифицированных мицелия: *Acremonium* sp., *Aspergillus niger*, *Cladosporium hillianum*, *C. perangustum*, *C. tenuissimum*, *Fusarium lactis*, *F. proliferatum*, *Penicillium coryophilum*, *P. aurantiogriseum*, *P. restrictum*, *Phoma* sp., *Mycelia sterilia* 2, *Mycelia sterilia* 3. Особенно часто в качестве биодеструкторов отмечают представителей родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium*. Данные микромицеты в условиях Республики Куба являются деструкторами цветных кинематографических пленок и документов в архивах. *Aspergillus niger* и *Cladosporium hillianum* отмечены как высоко активные деструкторы в архивах Кубы, обладают высокой целлюлозолитической, амилолитической активностью [5,6,7].

Таблица — Значение выровненности видового разнообразия на поверхности материалов

Материал	Значение индекса Пиелу
ГТМ	0,58 ± 0,002
ГТХ	0,50 ± 0,05
ГТБ	0,47 ± 0,25
ГТВ	0,57 ± 0,21
РКА	0,68 ± 0,04
РСК	0,54 ± 0,2
РБН	0,59 ± 0,04
РБС	0,46 ± 0,16
ФПЭ	0,38 ± 0,20
ЭФЭ	0,33 ± 0,19

В результате данной работы на образцах резин, герметиков и лакокрасочных покрытий по показателю обилия доминировали виды рода *Cladosporium*. Виды *C. hillianum* и *C. tenuissimum* обильно присутствовали на всех материалах, в то время как известные биодеструкторы *Aspergillus niger* и виды рода *Penicillium* были отмечены не на всех образцах и по показателю обилия в гораздо меньшем количестве. Виды *Curvularia clavata* и *C. lunata*, доминировавшие в воздухе микологической площадки, не были отмечены на поверхности материалов. Экспонирование образцов проходило в сухой сезон, что может объяснить отсутствие видимого роста микроорганизмов на большинстве образцов.

Контаминация поверхности лакокрасочных покрытий ФПЭ и ЭФЭ микромицетами по количеству КОЕ в целом была выше чем резин и герметиков, и состояла

в основном из представителей рода *Cladosporium*, что может объясняться структурой поверхности материала. Выровненность видового разнообразия, согласно индекса Пиелу, сравнительно невысокая на лакокрасочных покрытиях. Численность видов наиболее ровно распределена на резине РКА и РБН (таблица).

Изучение грибов на поверхности полимерных материалов в условиях климата Республики Куба является очень перспективным. С поверхности материалов после экспозиции в сухой сезон было выделено 13 штаммов контаминантов. По показателю обилия среди всех микромицетов доминируют виды рода *Cladosporium*. Планируется дальнейшее экспонирование образцов с целью всесезонного изучения их стойкости к воздействию микромицетов в натуральных условиях, а также исследования непосредственных микромицетов-деструкторов материалов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ №18-53-34006.

Список литературы

1. Каневская И.Г. Биологическое повреждение промышленных материалов. Л.: Наука. 1984. — 229 с.
2. Allsopp D., Seal K.J., Gaylarde C.C. Introduction to biodeterioration; 2nd ed. — Cambridge: Cambridge University Press. 2004. — 232 p.
3. Васильева А.А., Чекунова Л.Н., Биланенко Е.Н., Качалкин А.В., Полякова А.В. Особенности вида *Monascus floricidans* P.F. Cennon et E.L. Barnard, выделенного из авиационного топлива // Микробиология, 2012. Т. 81. №2. С. 266–272.
4. Кураков А.В., Геворкян С.А., Гогинян В.Б., Озерская С.М. Разнообразие и особенности состава микроскопических грибов на синтетических материалах // Прикладная биохимия и микробиология, 2008. Т. 44. №2. С. 232–235.
5. Vivar I., Borrego S., Ellis G., Moreno D.A., García A.M. Fungal biodeterioration of color cinematographic films of the cultural heritage of Cuba // International Biodeterioration & Biodegradation, 2013. V. 84. P. 372–380
6. Borrego S., Lavin P., Perdomo I Gomez de Saravia S., Guimet P., Determination of indoor air quality in archives and biodeterioration of the Documentary Heritage // ISRN Microbiology, 2012. 10P.
7. Molina A., Valdes O., Borrego S., Perez D., Castro M., Diagnostico micologico ambiental en depositos de la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial // Nova Acta Scientifica Compostelana (Biologia), 2014. V. 21. P. 107–117.

ПЛЕСНЕВОЕ ПОРАЖЕНИЕ КАРТОННЫХ КОРОБОК ДЛЯ ФАЗОВОЙ КОНСЕРВАЦИИ АРХИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ

Гончарова И.А.¹, Тригубович А.М.², Арашкова А.А.²
¹Белорусский НИИ документоведения и архивного дела, Минск
²Институт микробиологии НАН Беларуси Минск

Старение документов на бумажной основе вызывает необходимость использования архивами разных форм консервации. Помимо соблюдения температурно-влажностного, светового и санитарно-гигиенического режима хранения, сюда входит применение фазовой консервации — хранения документов в контейнерах из материалов, разрешенных к использованию. Наиболее часто в Беларуси архивные документы помещают в коробки из картона, который благодаря развитой пористой структуре эффективно регулирует влажностный режим, но и сам может стать питательным субстратом для плесневых грибов. При относительной влажности воздуха более 70% наступает капиллярная конденсация влаги, что создает возможность прорастания грибных спор [1].

Микологическое обследование хранилища одного из архивов г. Минска было проведено после выявления его работниками на наружной стене черных пятен. Во время обследования температура в центре помещения составила 14,7 °С, относительная влажность воздуха — 71,7%. Наружная стена внизу на ощупь была значительно холоднее внутренних стен, а на примыкающем к полу участке присутствовали высолы, что свидетельствовало о нарушении термо- и гидроизоляции фундамента. При детальном осмотре хранилища внимание привлекли картонные коробки с документами, на поверхности которых были заметны пылевидные налеты.

Пробы налетов высевали в чашки Петри со средой Чапека-Докса 4 диаметральными штрихами. О наличии очага плесневого поражения судили по появлению

по штрихам четких полос, образованных множеством колоний с одинаковыми культуральными признаками, агентами биоповреждения считали доминирующие культуры.

Результаты микологического анализа показали, что темные пятна на наружной стене являются колониями *Stachybotrys chartarum*, *Ulocladium atrum*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium chrysogenum*. На нескольких архивных коробках, находящихся на расположенных возле пораженной стены стеллажах, выявлены небольшие колонии *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum* и *Paecilomyces variotii*. Наибольшее количество пораженных коробок, находившихся в центре хранилища и в отдалении от наружной стены, были покрыты сплошным слоем мицелия гриба *Aspergillus versicolor*.

Чтобы выяснить причины такой избирательности, было изучено отношение агентов плесневого поражения к температуре и влажности. Так как выделенные грибы значительно различаются по ростовой активности, критерием оценки была выбрана биомасса газонной культуры на среде Чапека-Докса. Для снижения активности воды (a_w) до 0,85 в среду добавили 17% хлорида натрия, в контроле значение данного показателя считали 0,98. Через 3 недели культивирования в термостате с 15 и 28 °С, а также в бытовом холодильнике (5 °С), биомассу гриба отделяли от агаризованной среды горячим фильтрованием после 5 мин. кипячения в большом объеме воды и высушивали.

Результаты исследования показали, что для колонизировавшего архивные коробки штамма *A. versicolor* К-51 более предпочтительна среда с низкой активно-

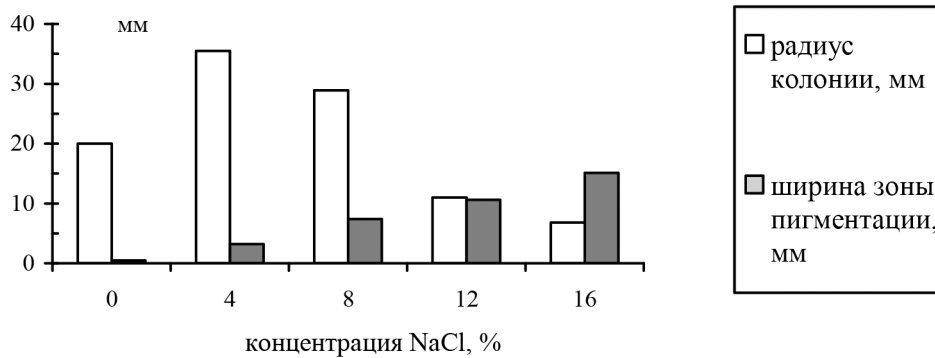
Таблица 1. — Биомасса газонной культуры грибов, выделенных из очагов плесневого поражения архивных коробок в зависимости от температуры и активности воды

T, °C	A _w	Средняя плотность биомассы газона, мг/см ²			
		<i>A. versicolor</i> К-51	<i>C. herbarum</i> К-48	<i>Ch. globosum</i> К-68	<i>P. variotii</i> К-62
5	0,85	0,41	0,82	0,56	0,53
	0,98	0,32	2,04	1,80	1,54
15	0,85	3,20	1,81	0,82	0,94
	0,98	2,36	2,43	2,04	2,17
28	0,85	3,03	1,48	1,72	1,33
	0,98	2,40	3,20	2,49	2,80

Таблица 2. — Биомасса газонной культуры грибов, выделенных из очагов плесневого поражения наружной стены хранилища в зависимости от температуры и активности воды

T, °C	A _w	Средняя плотность биомассы газона, мг/см ²			
		<i>S. chartarum</i> С-4	<i>C. herbarum</i> С-24	<i>P. chrysogenum</i> С-35	<i>U. atrum</i> С-12
5	0,85	0	0,54	0,41	0
	0,98	2,12	2,23	1,80	1,35
15	0,85	0,27	1,02	0,76	0,41
	0,98	2,64	2,33	2,02	1,94
28	0,85	0,30	0,38	1,67	0,72
	0,98	1,71	0,89	2,52	2,32

Рисунок — Радиус колоний и ширина зоны пигментации через 30 суток роста



Aspergillus sp. CP-8 на среде Чапека-Докса с различным содержанием хлорида натрия

стью воды, выход биомассы в варианте с a_w 0,85 превосходил контроль в 1,5 раза, в холодильнике данный гриб рос очень слабо. В отличие от него грибы, выросшие на коробках возле наружной стены, одинаково хорошо росли при низкой (5 °C) и пониженной (15 °C) температурах, но проявляли высокую требовательность к влажности. При 5 °C и a_w 0,98 биомасса *A. versicolor* К-51 была в 5–7 раз ниже, чем у других грибов, выделенных с поверхности коробок, но при 15 °C и a_w 0,85 этот параметр был у него в 2–4 раза выше (таблица 1).

Согласно результатам исследования можно утверждать, что развиваться на коробках из картона могут только микромицеты с выраженными ксерофильными свойствами. Все грибы, образовавшие колонии на стене хранилища, хорошо росли при низкой температуре в контроле, но при снижении a_w до 0,85 их рост прекращался или значительно ослабевал, поэтому они и не смогли колонизировать картон (таблица 2).

Наибольшую степень плесневого поражения имели коробки, оклеенные цветной бумагой. Вероятно, клей и послужил основным источником углерода на начальных этапах процесса колонизации. Когда процесс развития грибов активизируется, картон превращается в коллоидно-биологическую систему: капилляры заполняются мицелием, что приводит к гидрофобизации и возрастанию количества свободной воды. Механизм биохимических превращений при низкой влажности направлен в сторону увеличения доли связанной воды в клетках грибов, что приводит к усилению возможности противостоять отрицательным воздействиям внешней среды [2].

Следует отметить, что, хотя выделенный штамм *Aspergillus versicolor* на питательной среде продуцировал розовый пигмент, на колонизированных им коробках красноватые пятна отсутствовали. Ни в одной из пораженных коробок признаков развития микромицетов на документах или внутренней поверхности картона не обнаружено. Высев проб пылевидных частиц из коробок подтвердил, что плесневое поражение не затронуло самих документов, которые обеспылили, переместили в новые картонные коробки и перенесли в чистое помещение.

Несмотря на то, что картонные коробки достаточно эффективно выполняют защитные функции, за их внешним видом требуется постоянное наблюдение даже в архивохранилищах со стабильным температур-

но-влажностным режимом. Для изготовления архивных коробок используют толстый картон, в котором велика вероятность выживания грибных спор в процессе производства. Процесс производства бумаги и картона (использование высоких температур и токов высокой частоты в процессе сушки, добавление биоцидных веществ), создают экстремальные условия для выживания микроорганизмов. Однако при нарушении технологического режима меланинсинтезирующие грибы, отличающиеся особой устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды, могут сохранять свою жизнеспособность [3].

Сложность ситуации с использованием контаминированного картона при изготовлении средств для фазовой консервации документов заключается в том, что первые заметные пигментные пятна на поверхности зараженных коробок проявляются только через полтора-два года и медленно распространяются дальше годами независимо от условий хранения.

Известно, что грибы, синтезирующие черно-коричневые пигменты меланины, отличаются повышенной устойчивостью ко многим факторам внешней среды, подавляющим рост культур, не образующих пигменты. Меланины грибов защищают их от экстремальных факторов внешней среды: высоких и низких температур, интенсивной инсоляции, тяжелых металлов, и др. Доказано, что меланиновый пигмент участвует в защите грибной клетки от высыхания [4].

Из фрагментов картона архивных коробок с черными пигментными пятнами без видимых следов развития мицелия или спороношения нами был выделен штамм, отнесенный к роду *Aspergillus*, который на среде с 17% хлорида натрия формировал колонии с темноокрашенными конидиями и обильным темно-коричневым экссудатом. При культивировании гриба на агаризованных средах повышение содержания соли в среде снижало скорость роста, но увеличивало ширину зоны пигментации (рисунок). Аналогичным образом действовало и добавление в среду биоцидных препаратов.

Штамм *Aspergillus sp. P-8* характеризовался психро- и ксеротолерантными свойствами. Наибольший выход биомассы газонной культуры наблюдался на среде с a_w 0,85 при длительном культивировании в холодильнике. При повышении температуры до 15 °C рост интенсифицировался, но выход биомассы газона снизился в 1,5 раза. Пигментация агаризованной среды на среде Сабу-

ро, содержащей предшественники синтеза меланина [4], была более интенсивной, чем на среде Чапека-Докса.

Проведенные исследования показали, что картонные коробки для фазовой консервации документов способны эффективно защитить объекты архивного хранения на бумажной основе от плесневого поражения только при соблюдении температурно-влажностного режима. Однако существует необходимость системной проверки микологической безопасности картонных изделий для фазовой консервации документов еще на стадии их поступления в архивы.

Список литературы

1. Borrego S., Molina A., Santana A. Fungi in Archive Repositories Environments and the Deterioration of the Graphics Documents. *EC Microbiology*. – 2017. – V. 11, N5. – P. 205–226.
2. Нюкша Ю.П. Биологическое повреждение бумаги и книг – СПб. – 1994. — 234 с.
3. Jerusik R. J. Fungi and paper manufacture // *Fungal biology reviews* 2010. — V. 24. - P. 68–72
4. Butler J., Day W. Fungal melanins: a review. *Can. J. Microbiol.* – 1998 V. 44 .– P. 1115–1136.

ИСПЫТАНИЯ ГРИБОСТОЙКОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ ВО ВСЕРОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ (ВКМ, ИБФМ РАН)

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

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН — обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Вопросы, связанные с проведением испытаний грибоустойкости природных и искусственных промышленных материалов, являются важными и актуальными как для общей промышленной биотехнологии, так и ее значительной части — прикладной микологии. Известно, что на протяжении последних нескольких десятков лет в бывшем СССР и Российской Федерации разработаны многочисленные нормативные документы для контроля степени деградации промышленных изделий и материалов под воздействием мицелиальных грибов в различных экологических условиях. Без проведения соответствующих испытаний в настоящее время практически невозможно ввести в эксплуатацию новый промышленный образец или конструктивное изделие, в состав которого входят различные материалы.

Работы по проведению испытаний на грибоустойкость в течение ряда лет успешно проводятся на базе Лаборатории мицелиальных грибов Отдела «Всероссийская коллекция микроорганизмов» (ВКМ) Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина (ИБФМ РАН). ИБФМ РАН в настоящее время является обособленным подразделением Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН).

Характер и направление деятельности ВКМ как центра сбора, изучения, поддержания и предоставления широкого спектра непатогенных микроорганизмов и информации о них для научных, образовательных, производственных и других учреждений определены Постановлением Президиума АН СССР N 942 от 25.09.80, утвердившим «Положение о ВКМ». В настоящее время ВКМ является крупнейшей в России коллекцией непатогенных микроорганизмов, входит в список коллекций национального значения (Постановление Правительства РФ №725–47 от 24.06.96). ВКМ является признанным на международном уровне центром депонирования типовых штаммов вновь описываемых видов микроорганизмов и сохранения их на территории

Российской Федерации; зарегистрирована в Международном центре данных о микроорганизмах (World Data Center of Microorganisms — WDCM) Всемирной федерации коллекций культур (World Federation for Culture Collection — WFCC, № 342).

С 1987 г. ВКМ выполняет функции Международного органа по депонированию культур, защищенных патентами — согласно принятым страной обязательств по Будапештскому договору о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры (Budapest Treaty Notification No. 63, Jul 28, 1987).

Широко используемый в РФ фонд ВКМ включает более 20000 культур микроорганизмов; открытый каталожный фонд содержит более 10000 штаммов, относящихся к различным таксономическим группам (бактерии и археи, актинобактерии, мицелиальные и дрожжевые грибы). В терминах видового разнообразия и представленности видов типовыми штаммами, поддерживаемые в ВКМ и предоставляемые пользователям общедоступные фонды таких микроорганизмов, как актинобактерии, мицелиальные грибы и дрожжи являются самыми крупными в России и СНГ. По данному показателю ВКМ входит в первый десяток наиболее крупных коллекций культур микроорганизмов мира. ВКМ зарегистрирована в реестре Современной исследовательской структуры Российской Федерации как Уникальная научная установка (<http://ckp-rf.ru/usu/73546/>) и Центр коллективного пользования (<http://ckp-rf.ru/ckp/74752/>).

Важную часть фонда ВКМ составляют культуры микроорганизмов, используемые в качестве тест-организмов для испытаний различных промышленных изделий на грибоустойкость в соответствии с требованиями российских и международных стандартов качества. Значительная часть тест-организмов была предоставлена ВКМ всемирно признанными организациями из США (Американская коллекция типовых культур — ATCC), Германии (Германская коллекция микроорганизмов и клеток — DSMZ), Нидерландов (Голландская коллекция культур грибов — CBS-KNAW). Именно эти организмы используются для испытаний во всем мире,

что позволяет получать сравнимые результаты оценки грибостойкости материалов.

В 1975 году постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 11 мая 1975 года № 1226 был утвержден ГОСТ 9.048–75 «Единая система защиты от коррозии и старения. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов» взамен ГОСТ 15151–69 «Машины, приборы и другие технические изделия для районов с тропическим климатом. Общие технические условия» в части метода испытаний на грибоустойчивость. В приложении 3 данного документа «Пересев, выращивание и хранение культур плесневых грибов» указано, что — чистые культуры плесневых грибов получают в Институте микробиологии АН СССР. В редакции ГОСТ 9.048–89 информация повторяется с учетом изменений, связанных с передачей ВКМ из Института микробиологии АН СССР в Институт биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР. В приложении 4, пункт 1 ГОСТ 9.048–89 указано, что чистые культуры плесневых грибов получают один раз в 3 года в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР (правопреемник — ИБФМ РАН). Штаммы поддерживаются в ВКМ и передаются установленным порядком заинтересованным организациям. Полная информация о штаммах и порядке их передачи содержится в Каталоге ВКМ, размещенном на сайте <http://www.vkm.ru/>.

ВКМ обладает всеми возможностями для проведения испытаний промышленных материалов на грибостойкость в соответствии с требованиями различных ГОСТ:

- доступность без ограничения в жизнеспособном состоянии необходимых для выполнения работ тест-организмов;
- лицензия Роспотребнадзора России № 77.01.13.001.Л. 000047.10.19 на осуществление деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных (за исключением случая, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III и IV степеней потенциальной опасности, осуществляемой в замкнутых системах.

Данная лицензия необходима для проведения работ по определению грибостойкости, поскольку используемые при этом тест-организмы относятся к представителям 3 и 4 групп патогенности по «Классификации микроорганизмов — возбудителей инфекционных заболеваний...», приведенной в Приложении 1 к Санитарно-эпидемиологическим правилам СП 1.3.2322–08 «Безопасность работы с микроорганизмами» в ред. Дополнений и изменений № 2, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.06.2011 N 86. Важно отметить, что в соответствии с законодательством Российской Федерации ни одна организация (в том числе испытательные центры) не может проводить работы по определению грибостойкости промышленных материалов с использованием чистых культур мицелиальных грибов, если она не обладает такой Лицензией;

- квалифицированный персонал;
- наличие приборов, оборудования и средств измерений, используемых в лаборатории, которые аттестованы, технически исправны, имеют технический паспорт и рабочую инструкцию по эксплуатации с учетом требований биологической безопасности. Средства измерения метрологически поверены. Камера для проведения испытаний аттестована ФБУ «Ростест-Москва».

За последние годы проведены десятки испытаний грибостойкости различных промышленных материалов для отечественных пользователей, результаты некоторых из них опубликованы [1–7]. Информация сохранена в базах данных ВКМ.

Список литературы

1. Rogovina S., Prut E., Aleksanyan K., Krashenninikov V., Perepelitsyna E., Shashkin D., Ivanushkina N., Berlin A. Production and investigation of structure and properties of polyethylene — polylactide composites // *Journal of Applied Polymer Science*, 2019, 136 (22): 47598. <https://doi.org/10.1002/app.47598>
2. Rogovina S., Aleksanyan K., Vladimirov L., Prut E., Ivanushkina N., Berlin A. Development of novel biodegradable polysaccharide-based composites and investigation of their structure and properties // *Journal of Polymers and the Environment*. — 2018 (April). — Vol. 26, N 4. — P. 1727–1736. — DOI:10.1007/s10924-017-1069-3.
3. Rogovina S.Z., Aleksanyan K.V., Gorenberg A.Ya., Ivanushkina N.E., Prut E.V., Berlin A.A. Investigation of biodegradability of composites based on polyethylene and polysaccharides by independent methods // *Mendelev Communications*. — 2018 (January — February). — Vol. 28, N 1. — P. 105–107. — DOI:10.1016/j.mencom.2018.01.036.
4. Rogovina S.Z., Aleksanyan K.V., Loginova A.A., Ivanushkina N.E., Vladimirov L.V., Prut E.V., Berlin A.A. Influence of PEG on mechanical properties and biodegradability of composites based on PLA and starch // *Starch*. — 2018 (5 March). 70: 1700268. — DOI: 10.1002/star.201700268.
5. Rogovina S., Aleksanyan K., Vladimirov L., Prut E., Ivanushkina N., Berlin A. Development of novel biodegradable polysaccharide-based composites and investigation of their structure and properties // *J. Polym. Environ.*, 2017, 26(4): 1727–1736. DOI 10.1007/s10924-017-1069-3.
6. Иванушкина Н.Е., Роговина С.З., Алексанян К.В., Логинова А.А. Деструкция крахмалсодержащих полимерных композиций плесневыми грибами / *Современная микология в России. Том 6. Материалы 4-го Съезда микологов России*. — М.: Национальная академия микологии, 2017. — С. 416–417.
7. Роговина С.З., Алексанян К.В., Косарев А.А., Иванушкина Н.Е., Прут Э.В., Берлин А.А. Биоразлагаемые полимерные композиции на основе полилактида и целлюлозы // *Высокомолекулярные соединения*. — Серия Б. — 2016. — Т. 58. — № 1. — С. 43–52.

ОСОБЕННОСТИ ГРИБКОВОЙ БИОДЕСТРУКЦИИ ЗДАНИЙ ИСТОРИЧЕСКОЙ ЗАСТРОЙКИ г. КАЗАНИ

Халдеева Е.В.¹, Глушко Н.И.¹, Лисовская С.А.^{1,2}, Хайдарова Г.Г.¹
¹ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора
²Казанский государственный медицинский университет

Защита материалов и конструкций здания от повреждений и разрушений, вызываемых микроорганизмами, остается одной из актуальных проблем со времен постройки первых жилищ и до сих пор. Микроорганизмы, такие как бактерии, грибы, водоросли, способны очень быстро разрушать различные материалы [1,2]. Наиболее агрессивными биоповреждающими агентами являются микроскопические грибы — микромицеты. Микромицеты, вызывающие биоповреждения, относятся к группе гетеротрофных сапротрофов [3, 4]. Они тесно связаны с субстратом, обладают большой поверхностью всасывания и оказывают активное влияние на окружающую среду через продукты метаболизма.

Деятельность грибов, как правило, приводит к обесцвечиванию поверхностей, образованию пятен и налетов, физическому и химическому разрушению отдельных компонентов материалов. Благоприятные условия для роста грибов — это повышенная влажность и ограниченный воздухообмен. Очень часто материалы контаминируются неагрессивными грибами, неприхотливыми и способными к росту в экстремальных условиях. Налеты таких грибов могут создавать микроусловия для обитания более агрессивных грибов, активно повреждающих материалы.

Все это приобретает особое значение при сохранении исторической архитектурной застройки городов. Историческая застройка, имеющая значительный хронологический возраст, со временем постепенно прекращает удовлетворять функциональным, конструктивным, гигиеническим требованиям, утрачивает внешние художественные элементы, а также снижаются ее характеристики прочности и надежности [5,6].

В зданиях исторической застройки большое количество деревянных элементов строительных конструкций, что придает актуальность изучению видового состава грибов-биодеструкторов, способных негативно влиять на их технические, функциональные и эстетические характеристики. Выявление и элиминация таких грибов на этапе реставрации или реконструкции объектов культурного наследия позволяет существенно снизить риск их биоразрушения и продлить срок эксплуатации.

В связи с этим, целью работы является изучение видового состава грибов-биодеструкторов строительных конструкций зданий исторической застройки.

Материалы и методы. Проведено обследование 10 зданий исторической застройки, расположенных в г. Казани, а также на острове Свяжск. Всего отобрано 210 проб, в том числе:

- 176 проб, отобранных с деревянных элементов строительных конструкций (балки перекрытия, стропильные системы, настил пола) исторических зданий, планируемых к реконструкции.
- 25 проб, отобранных в точках примыкания (кирпич, камень) деревянных элементов конструкций.
- 9 проб, отобранных с деревянных элементов, установленных взамен поврежденных. Срок эксплуатации от 1 года до 5 лет.

Отбор проб проводили методом соскобов и мазков с поверхности и из глубины конструкций, отбирали кусочки древесины из трещин и с торцевых поверхностей.

Производили посев на питательные среды: модифицированная среда Сабуро, среда Чапека-Докса, среда Макринова (для выделения домового гриба — *Serpula*

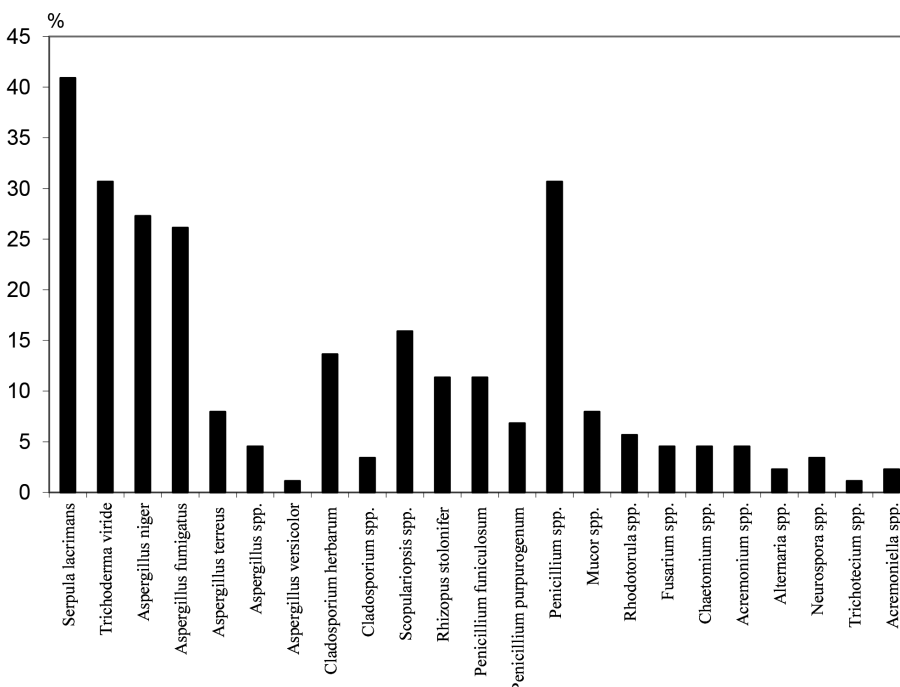


Рисунок 1 — Видовой состав микробиоты деревянных строительных конструкций зданий исторической застройки г. Казани

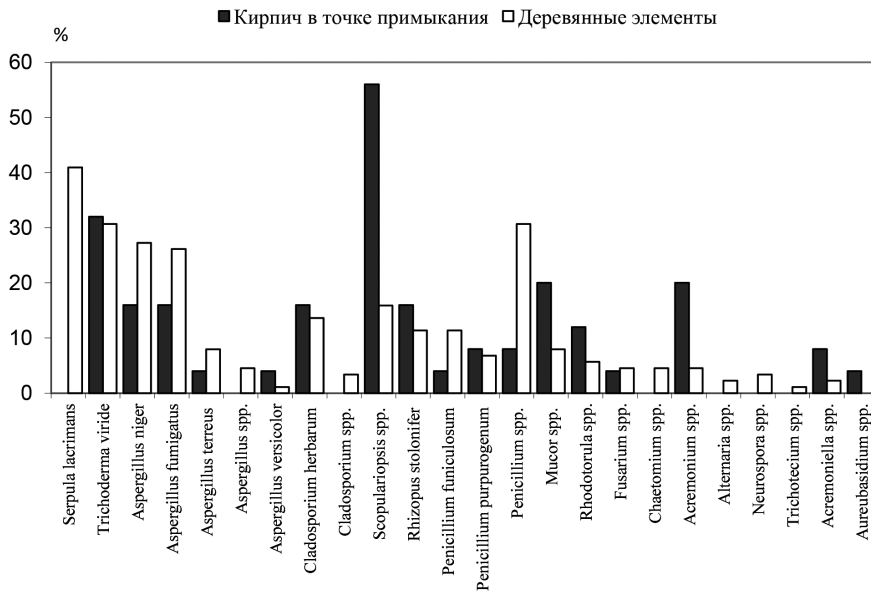


Рисунок 2 — Микобиота кирпича в точках примыкания и деревянных элементов строительных конструкций зданий исторической застройки г. Казани

lacrimans) [7]. Культивировали в течение 10–14 суток при 30 ± 2 °C. Идентификацию микроорганизмов проводили морфологическими и микроскопическими методами.

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ видового состава микобиоты деревянных элементов строительных конструкций (рис. 1) свидетельствует о присутствии большого видового разнообразия грибов. Среди их можно выделить активных биодеструкторов целлюлозы — *Serpula lacrimans*, *Cladosporium herbarum*, *Trichoderma viride*, а также виды-биодеструкторы, обладающие широкой субстратной специфичностью и способные поражать материалы различной природы — *Penicillium funiculosum*, *Aspergillus terreus*, *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis spp.*

Наиболее значимым для прочности деревянных элементов является возможность повреждения домовым грибом (*Serpula lacrimans*). Это обусловлено тем, что данный вид способен распространяться вглубь материала, практически полностью разрушая его, что крайне негативно влияет на прочность конструкций. Выявление *Serpula lacrimans* требует использования селективных сред и длительного культивирования, вследствие чего нередко упускается.

Проведенное исследование показало, что более 40% деревянных элементов, отобранных на этапе реконструкции, поражены домовым грибом. Причем, в ряде случаев, при исследовании балок перекрытия рост *Serpula lacrimans* отмечали на различных концах, в середине и в глубине, т. е. биопоражение распространялось на весь элемент. Сходная картина отмечалась и для стропил. В случае полов и опорных брусов выявление *Serpula lacrimans* отмечено в единичных случаях.

Выявление домового гриба является основанием для замены несущих конструктивных элементов и реставрации декоративных. В случае зданий исторической застройки, требующих максимального сохранения аутентичных элементов, это приводит к необходимости проведения дополнительных исследований и увеличению стоимости работ. Однако отсутствие микологической экспертизы в случае деревянных эле-

ментов может оказаться фатальным для сохранения их целостности, что может крайне негативно отразиться на состоянии конструкций здания.

Источником распространения грибов может стать пыль, а также пораженные грибами строительные материалы (дерево, кирпичная крошка, штукатурка, т. п.). При этом в ряде случаев возникает вопрос о том, какой из материалов становится источником распространения процессов биопоражения. Наиболее наглядно это демонстрирует исследование состава микобиоты балок перекрытия и кирпича в точках примыкания (рис. 2).

Анализ полученных результатов показал, что некоторые виды с равной вероятностью способны контаминировать различные типы материалов. Среди них — *Trichoderma viride*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium spp.*, которые рассматриваются, преимущественно, в качестве биодеструкторов целлюлозы, а также *Rhizopus stolonifer*. Высокая частота их обнаружения на поверхности кирпича в точках примыкания, вероятно, обусловлена большим количеством спор, продуцируемых грибами в процессе развития и поверхностным характером биопоражения.

Некоторые виды грибов с большей частотой обнаруживаются на поверхности деревянных элементов строительных конструкций, например, *Aspergillus u Penicillium spp.*, в т.ч. *Penicillium funiculosum*, а некоторые — *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis spp.*, *Mucor spp.*, *Acremonia spp.* — на поверхности кирпича.

При этом в целом, видовое разнообразие грибов на поверхности деревянных элементов было больше, чем на кирпиче в точках примыкания.

Таким образом, проведенные исследования подтверждают высокий уровень контаминации грибами-биодеструкторами деревянных элементов строительных конструкций исторических зданий, повышенную обсемененность грибами-биодеструкторами в точках примыкания деревянных элементов строительных конструкций к элементам фасада, а также большее видовое разнообразие грибов-биодеструкторов на поверхности деревянных элементов, по сравнению с материалом фасада.

Заключение. Неконтролируемая урбанизация, движение транспорта, неуместное новое строительство в исторической среде, а также неправильный режим эксплуатации существующих зданий ускоряют процессы естественного старения объектов архитектурного наследия, тем самым создавая угрозу их физической утраты. Решение задач сохранения таких объектов, возможно только при условии комплексного учета всех воздействующих на них факторов, в том числе — негативного воздействия грибковой контаминации и биодеструкции.

Поражение грибами влияет на технические и функциональные свойства строительных конструкций, в связи с чем на этапе подготовки к реконструкции необходимо проведение технической экспертизы и микологического обследования для обоснования возможности их дальнейшей эксплуатации. Реализация такого подхода позволит не только сохранить объекты культурного наследия, но и выявить и усилить связь с историей, поможет повысить их культурную ценность и сохранить преемственность времен.

Список литературы

1. Васильева Н.В., Елинов Н.П. Микроорганизмы — контаминанты и патогены — индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей. — СПб: Коста, 2009.—224 с.
2. Биоповреждения больничных зданий и их влияние на здоровье человека. / Под ред. А.П. Щербо, В.Б. Антонова. — СПб МАПО, 2008. — 232 с.
3. Методы исследования и оценки биоповреждений, вызываемых микроорганизмами: учеб.-метод. пособие / Н.С. Карамова, Г.В. Надеева, Т.В. Багаева. — Казань, 2014. — 36 с.
4. Анисимова Е.Н., Анисимова А.А., Бакшеева С.С., Попов В.Г. Изучение распространения грибов-биодеструкторов в нежилых помещениях г. Красноярска // Вестник КрасГАУ. 2016. №12 С. 171–176.
5. Макарова К.С. Актуальность и проблемы сохранения объектов исторической застройки // Научное сообщество студентов XXI столетия. Технические науки: сб. мат. LVI междунар. студ. науч.-практ. конф. № 8(55). URL: [https://sibac.info/archive/technic/8\(55\).pdf](https://sibac.info/archive/technic/8(55).pdf).
6. Лисицына А.В. Историко-архитектурная среда средних и малых городов Поволжья как феномен культурного наследия // Архитектон: известия вузов. 2014. № 45.
7. Дудка И.А., Вассер С.П. Методы экспериментальной микологии. — «Наукова думка». — 1982.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К ПОВЫШЕНИЮ ГРИБОСТОЙКОСТИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Храмов Е.Н.¹, Родин О.Н.², Поклонский Д.Л.²

¹Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения ФМБА РФ, Москва

²Научно-исследовательский центр (экспертный, химических и биологических угроз) «48 ЦНИИ» Минобороны РФ, Москва

Биоповреждения технологических материалов, оборудования и сооружений грибами представляют большую опасность [1, 2]. В настоящее время проводятся интенсивные исследования в области разработки новых материалов, обладающих повышенной биостойкостью к различным видам грибов-биодеструкторов [3]. Наиболее распространенными представителями грибов, вызывающих биокоррозию в различных условиях, являются грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*.

Увеличение срока эксплуатации металлоконструкций и снижение биокоррозионного действия, как правило, достигается либо путем антикоррозийной защиты лакокрасочными покрытиями (ЛКП), либо за счет припусков на коррозию. Так как второй вариант более ресурсоемкий и менее эффективный, то вопрос повышения защитных свойств с помощью ЛКП является актуальным. Для защиты от биокоррозии используют ЛКП, обладающие бактерицидными и фунгицидными свойствами. При защите металла от коррозии с помощью ЛКП выделяют барьерный и адгезионный механизмы. Как правило, они сочетаются: нижний слой покрытия — грунт, обеспечивает адгезию, верхние слои обеспечивают барьерную за-

щиту, то есть изоляцию поверхности, при этом эффективность зависит от непроницаемости, химической стойкости покрытий, сцеплением с подложкой. В связи с этим возникает потребность в разработке составов, которые можно было бы наносить непосредственно как на подготовленную чистую, так и на необработанную поверхности. Наиболее подходящими для этой цели являются фосфатирующие составы и фосфатирующие грунты.

В рамках проведенных исследований нами был изучен вопрос стойкости металлических образцов к воздействию грибов-биодеструкторов. Для проведения исследования нами был выбран азотно-фосфорноцинковый состав, получаемый из апатитового концентрата. Данный состав наносился на подготовленную металлическую поверхность (сталь Ст-3) в качестве изолирующего слоя и в последующем подвергался окраске поливинилхлоридной эмалью. Для заражения поверхностей применяли грибы *Aspergillus niger* van Tieghem и *Penicillium chrysogenum* Thom. Испытания металлических образцов и оценка биоповреждений осуществлялись в соответствии с гостированной методикой [4]. При просмотре под микроскопом металлических образцов подвергнутых, воздействию плесневых гри-

бов наблюдалось незначительное обрастание металлической поверхности грибным мицелием на уровне 1 балла в соответствии с ГОСТ 9.048–89.

Таким образом, проведенные исследования показали, что, азотно-фосфорноцинковый состав соответствует требованиям ГОСТ- 9.048–89 и может применяться в качестве защитной подложки для металлических поверхностей [4].

Список литературы

1. Герасименко А. А. Защита машин от биоповреждений / А. А. Герасименко — М.: Машиностроение, 1984. — 111 с.
2. Семенов С.А. Характеристики процессов и особенности повреждения материалов техники микроорганизмами в условиях эксплуатации / С.А. Семенов, К.З. Гумаргалиева, Г.Е. Заиков // Вестник МИТХТ. — 2008. — Т. 3. — №2. — С. 12.
3. Кац Н.Г. Химическое сопротивление материалов и защита оборудования нефте-газо-переработки от коррозии / Н.Г. Кац, В.П. Стариков, С.Н. Парфенова. — М. Машиностроение, 2011,—436с.
4. ГОСТ 9.048–89. Единая система защиты от коррозии и старения. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.

ВЛИЯНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТОПЛИВНЫХ СИСТЕМ САМОЛЕТОВ, И ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ НА БИОКОРРОЗИЮ АЛЮМИНИЕВОГО СПЛАВА Д–16

Кривушина А.А., Козлов И.А., Вдовин А.И., Новиков А.А.

ВНИИ авиационных материалов Государственный научный центр Российской Федерации, Москва

Способность микроскопических грибов повреждать различные материалы общеизвестна. Хотя микромицеты не могут использовать металлы в качестве источника питания, они активно развиваются на неметаллических материалах, находящихся в контакте с металлическими элементами, в процессе жизнедеятельности выделяя во внешнюю среду метаболиты, которые усиливают коррозионные процессы металлических конструкций. Наиболее остро эта проблема стоит для авиационных топливных систем, где за счет углеводородов топлива активно развиваются ассоциации микроскопических грибов и бактерий, вызывая целый ряд проблем в работе авиационной техники.

Целью данной работы было изучить влияние микромицетов-деструкторов, выделенных ранее из топливных баков самолетов, а также их метаболитов, на биокоррозию алюминиевого сплава Д–16, применяемого в конструкциях топливных систем самолетов. В качестве основной культуры был выбран штамм *Aspergillus niger* Tiegh, который встречается повсеместно и является активным деструктором различных типов неметаллических материалов. В исследованиях [1] потери веса образцов от коррозии после испытаний с культурой *A. niger* составили 4 г/м² для алюминия, 18 г/м² для меди и 33 г/м² для железа, что в 4 раза больше показателей при обычной коррозии. Кроме того, штаммы вида *Aspergillus niger* являются активными продуцентами низкомолекулярных органических кислот, в частности, лимонной кислоты. Соответственно, лимонная кислота была выбрана в качестве отдельного метаболита для изучения влияния ее на процессы биоповреждений. В качестве дополнительных тест-культур были выбраны два штамма, относящиеся к видам *Hormoconis resiniae* (Lindau) Arx & G.A. de Vries и *Monascus floridanus* P.F. Cannon & E.L. Barnard. *H. resiniae* широко известен как «керосиновый гриб», его наиболее часто выделяют из образцов авиационного топлива, данный вид считается основной причиной возникновения случаев биоповреждений авиационного топлива и материалов

топливных систем [2–4]. Штамм *M. floridanus* был выделен нами из образца загрязненного топлива, извлеченного из бака самолета, совершившего аварийную посадку по причине забивки фильтров. В своих предыдущих исследованиях мы показали, что выделенный штамм *M. floridanus* является «новым керосиновым грибом», потому что способен расти в топливе и на ряде нефтяных углеводородов не менее активно, чем известный вид *Hormoconis resiniae* [4,5].

Сущность эксперимента заключалась в экспонировании анодированных образцов алюминиевого сплава Д–16 в течение трех месяцев при температуре +28 °С в закрытых чашках Петри с жидкой средой Чапека, в которые заранее добавляли суспензии спор микромицетов и/или лимонную кислоту в соответствующей концентрации. Характер биоповреждений покрытия и коррозионные процессы оценивали по изменению внешнего вида образцов, проценту потери веса, наличию и масштабу очагов поражения. В случае обнаружения поражений определяли их глубину с использованием 3D-профилометра марки Plu Neox, изменения массы образцов определяли с помощью аналитических весов ACCULAB ALC–210d4.

В результате после испытаний образцов алюминиевого сплава в средах, содержащих в себе культуры микромицетов, отмечено разрушение защитного анодированного покрытия и образование питтинговой коррозии. В среде с чистой культурой гриба *Aspergillus niger* наблюдали практически полное разрушение защитного покрытия, схожее по характеру повреждений с действием среды с постоянной концентрацией лимонной кислоты. Потеря веса образцов после испытаний с культурой *Aspergillus niger* составила 0,99%. В средах со смесями грибов наблюдали частичное разрушение защитного покрытия. Потеря веса образцов после испытаний со смесью культур *Aspergillus niger* + *Hormoconis resiniae* составила 0,58%, после испытаний с *Aspergillus niger* + *Monascus floridanus* — 0,33%. Таким образом, после испытаний в среде с одной чистой куль-

турой *Aspergillus niger* степень разрушения защитного покрытия, оказались больше, чем в смешанных средах с добавлением двух других штаммов *Hormoconis resiniae* и *Monascus floridanus*. Предположительно, это можно объяснить конкурентными взаимоотношениями между штаммами разных видов микромицетов-деструкторов, присутствующих в одной среде, которое может приводить к снижению выработки ряда метаболитов, вызывающих биоповреждения.

Что же касается образования питтингов, то при воздействии штамма *Aspergillus niger* глубина повреждений составила от 410 до 510 мкм, в среде с культурами *Aspergillus niger* и *Hormoconis resiniae* — от 290 до 725 мкм, в среде с культурами *Aspergillus niger* и *Monascus floridanus* — от 210 до 520 мкм. Питтинговая коррозия наиболее часто встречается на практике и зависит от наличия в среде агрессивных ионов. Ее возникновение связано с нарушением пассивного состояния на локальных участках поверхности при наличии влажной среды [6].

При испытаниях воздействия сред с различными концентрациями лимонной кислоты отмечено полное разрушение защитного покрытия, но глубина и количество повреждений меньше, чем в случае воздействия микромицетов. Стоит отметить, что во время опытов с лимонной кислотой ее концентрация остается постоянной на протяжении всего времени эксперимента, тогда как в опытах с микроорганизмами в культуральной жидкости количество выделяемых кислот и других метаболитов постоянно меняется, так как активность их продукции зависит от фазы жизненного цикла микроорганизма. Наиболее глубокие питтинги были отмечены на образцах, подвергшихся воздействию одновременно микромицетов и лимонной кислоты: в среднем 500–660 мкм после воздействия 5% лимонной кислоты и культуры *Aspergillus niger*, самые глубокие 810 мкм после опыта с 10% лимонной кислотой и культурой *A. niger*. Если сравнивать с опытами только с лимонной кислотой, то питтинги гораздо меньшие по глубине — около 240 мкм и обнаружены лишь на части образцов после испытаний при концентрации 10%, при концентрации лимонной кислоты 5% повреждений не обнаружено. Также в испытаниях при одновременном

воздействии кислотной среды и микромицетов потеря веса образцов в 2,5–3 раза больше, чем в случае с одной кислотной средой. Так, в среде с 5% лимонной кислоты потеря веса составляет в среднем 0,75%, при дополнительном росте *Aspergillus niger* — 2,25%. В среде с 10% лимонной кислоты потеря веса составляет 0,87%, при дополнительном росте *Aspergillus niger* — 2,20%. Таким образом, жизнедеятельность микромицетов приводит не только к разрушению защитного анодированного покрытия, но и к инициации дальнейших коррозионных процессов.

Список литературы

1. Пехташева Е.Л., Неверов А.Н., Заиков Г.Е., Софьина С.Ю., Дебердеев Р.Я., Стоянов О.В. Микробиологическая коррозия металлов и защита от нее. Вестник Казанского технологического университета. 2012. Т. 15. № 5: 131–133.
2. Rauch M.E., Graef H.W., Rozenzhak S.M., Jones S.E., Bleckmann C.A., Kruger R.L., Naik R.R. Characterization of Microbial Contamination in United States Air Force Aviation Fuel Tanks. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2006. №33 (1): 29–36.
3. Seifert K.A., Hughes S.J., Boulay H., Louis — Seize G. Taxonomy, nomenclature and phylogeny of three cladospore-like hyphomycetes, *Sorocybe resiniae*, *Seifertia azaleae* and the *Hormoconis* anamorph of *Amorphoteca resiniae*. Studies in mycology. 2007. №58: 235–245.
4. Кривушина А.А., Чекунова Л.Н., Мокеева В.Л., Полякова А.В. Изучение микромицетов, обнаруженных в топливных баках эксплуатирующихся самолетов // Микология и фитопатология. 2016. 50 (2): 108–114.
5. Vasilyeva A. A., Chekunova L. N., Bilanenko E. N., Kachalkin A. V., Polyakova A. V. Characterization of the Strain *Monascus floridanus* P. F. Cannon & E. L. Barnard, Isolated from Aviation Fuel // Microbiology, 2012. 81(2): 244–250.
6. Каримова С.А., Жиликов В.П., Михайлов А.А., Чесноков Д.В., Игонин Т.Н., Карпов В.А. Натурно-ускоренные испытания алюминиевых сплавов в условиях воздействия морской атмосферы // Коррозия: материалы, защита. 2012. №10: 1–3.

РОЛЬ ГРИБОВ В БИОПОВРЕЖДЕНИИ ТОПЛИВ

Санджиева Д.А.², Кутузова И.А.¹, Бурова А.А.², Еланский С.Н.^{1,3}, Дедов А.Г.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

²Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина, Москва

³Российский университет дружбы народов, Москва

По разным оценкам доля участия микроорганизмов в коррозионных процессах горюче-смазочных материалов составляет от 20 до 80%. В России статистика ущерба от биоповреждений не ведется, тогда как в США ущерб от коррозии составляет 4% от ВВП [1]. Экологические и экономические последствия микробиологического загрязнения топливных материалов существенно увеличились за последнее десятилетие [2–

7]. Многие исследователи связывают это с изменением химического состава топлив: введением компонентов растительного или животного происхождения, снижением нормы по содержанию общей серы, запретом на содержание металлосодержащих присадок и т. п.

Изменения химического состава ГСМ влечет за собой изменения в микробиологических сообществах, вызывающих их биоповреждение [6,7]. В настоящее

время данных по составу микробных сообществ, выделенных из отечественных ГСМ, немного и, в основном, они сосредоточены на мицелиальных грибах [1,8]. При разработке современных методов контроля биоповреждений крайне важным является оценка влияния на процессы биодеструкции условий хранения и эксплуатации ГСМ, а также видового состава грибных сообществ, т. к. характер биоповреждений существенно от него зависит.

В данной работе нами были проведены исследования активности роста грибов и их влияния на биоповреждение ГСМ в зависимости от следующих факторов: температурный режим, количество свободной остаточной воды, концентрация серы, состав и концентрация минеральных примесей.

В качестве ГСМ были выбраны следующие типы:

- топливо для реактивных двигателей, высший сорт;
- топливо дизельное ЕВРО, летнее, сорт С;
- судовое маловязкое топливо, вид Э.

В качестве микроорганизма-деструктора ГСМ был выбран штамм гриба-аскомицета *Talaromyces rugulosus* (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert (штамм N6). Он проявил наибольшую углеводородокисляющую активность среди ранее выделенных нами из авиационного топлива грибов.

Культуру штамма *T. rugulosus* для заражения предварительно наращивали в течение 7 суток при комнатной температуре на твердой питательной среде сусло-агар. В готовую стерильную водную среду добавляли суспензию спор из смыва таким образом, чтобы концентрация спор в итоговой суспензии составляла $1,0 \cdot 10^7$ шт/мл. Все эксперименты проводили в трех повторностях. Пробы во всех экспериментах инкубировали при постоянной комнатной температуре 24 °С (кроме эксперимента с температурными режимами) 14 суток, после чего проводили измерения.

Биодеструкцию топлива оценивали по приросту сухого веса биомассы исследуемых микроорганизмов в мг/кг (стандартным методикам для определения содержания механических примесей) и по изменению рН среды.

Для изучения влияния температуры пробы инкубировали в термостатах в трех режимах: 15, 24 и 32 °С.

Для оценки влияния объема остаточной воды в топливе на развитие повреждающих ГСМ микроорганизмов были выбраны три различных соотношения топлива и воды: 1:1, 4:1 и 9:1.

При исследовании влияния концентрации серы на биоповреждение ГСМ ее концентрацию в экспериментальных пробах увеличивали, добавляя в исходные образцы серосодержащее органическое соединение дибензотиофен.

Для исследования влияния состава и концентрации минеральных примесей на биоповреждение ГСМ были взяты два варианта концентраций биогенных ионов: на примере модельной донной (морской) воды и водопроводной воды. Модельная донная вода имела следующий состав: 1,0 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 7,0 г/л K_2HPO_4 ; 0,1 г/л MgSO_4 ; 2,0 г/л KH_2PO_4 [9].

Результаты

Влияние температуры. Рост гриба наблюдался во всех образцах ГСМ, при всех исследуемых температу-

рах (за исключением судового топлива при 15 °С), на 14 сутки после заражения. В судовом топливе максимальный прирост биомассы соответствовал температуре 24 °С. Тогда как в авиационном и дизельном топливе активность роста гриба увеличивалась с ростом температуры — наибольший прирост биомассы наблюдался при 32 °С. При 15 °С во всех видах топлива биомасса была на порядок меньше, чем в остальных температурных режимах, а в судовом практически отсутствовала. Полученные результаты подтверждают данные о мезофильности этого вида грибов [10,11] и, возможно, свидетельствуют о его толерантности к высоким температурам.

Влияние количества остаточной воды. На 14-е сутки после заражения у всех образцов топлива наблюдался прирост биомассы. В большей степени биодеструкции подверглось дизельное топливо — содержание механических примесей (включающих биомассу) превысило норму в 18 раз. В случае с дизельным и с авиационными топливами, при соотношении топливо: вода = 4:1 наблюдался наибольший рост грибов.

Влияние повышенной концентрации серосодержащих органических соединений. В исследуемых видах топлива норма концентрации серы сильно варьирует. Известно, что серосодержащие органические соединения в углеводородном топливе могут являться как питательным субстратом для микроорганизмов, так и подавлять их развитие, либо не оказывать влияния [12].

В судовом и авиационном топливах при увеличенной концентрацией серы наблюдалось заметное увеличение роста гриба относительно проб без добавления дибензотиофена — прирост биомассы отличался в 3 раза. В дизельном топливе увеличение концентрации общей серы, наоборот, несколько снизило активность роста грибов — биомасса уменьшилась в 1,3 раза.

Влияние концентрации минеральных примесей. В дизельном и судовом топливах с донной водой, где концентрация фосфатов превышала их концентрацию в водопроводной в 100 раз, биодеструкция проходила интенсивнее. В авиационном же топливе с донной и водопроводной водой признаков биоповреждения не обнаружено. Наиболее активный рост гриба был отмечен в пробе судового топлива с добавлением донной воды. В дизельном топливе прирост биомассы был в 2–3 раза меньше, чем в судовом. Рост грибов в данном эксперименте практически не оказывал влияния на рН среды.

Таким образом, было проведено систематическое исследование влияния различных факторов на процессы биоповреждения топлив штаммом гриба *Talaromyces rugulosus*. Установлено, что содержание воды, концентрация биогенных ионов, температурный режим, а также концентрации общей серы влияют на рост грибов в топливе для реактивных двигателей (авиационное), в дизельном и судовом топливе.

Полученные результаты могут быть использованы при создании экспресс-метода контроля биоповреждения топлив и технических жидкостей, оценки их биостойкости и эффективности биоцидов.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант 18–29–05066).

Список литературы

1. Каблов Е.Н. и др. Микробиологические испытания авиационных материалов // ВИАМ/2010–205617.
2. Passman, F. J. Microbial contamination control in fuels and fuel systems since 1980 — a review // International Biodeterioration & Biodegradation. — 2012. — Vol. 81. P. 88–104.
3. Yemashova N. A. et al. Biodeterioration of crude oil and oil derived products — a review // Rev Environ Sci Biotechnol. — 2007. — V. 6. P. 315–337.
4. Gaylarde C. C., Bento F. M., Kelley J. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control // Rev Microbiol. — 1999. V. 30. P. 1–10.
5. Rauch M. E. et al. Characterization of microbial contamination in United States Air Force aviation fuel tanks // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. — 2006. V. 33. P. 29–36.
6. Soriano A.U., Martins L.F., Ventura E.S.A., Landa F.H.T.G., Valoni E.A., Faria F.R.D. et al. Microbial aspects of biodiesel and biodiesel/diesel blends biodeterioration // Int Biodeterior Biodegrad. — 2015. V. 99. P. 102–114.
7. Smith R N. Development of fuel microbiology // Biodeterioration and biodegradation. London: Elsevier Applied Science. — 1991. P. 112–124.
8. Васильева А.А., Чекунова Л.Н., Полякова А.В. Влияние температуры на рост и жизнеспособность *Hormoconis resinae* и *Phialophora* sp., развивающихся в авиационном топливе // ВИАМ/2008–205222.
9. Passman F. J., Dobranic J. K. Relative biodegradability of B-100 biodiesel and conventional low sulfur diesel fuels. // IASH 2005, the 9th International Conference on Stability, Handling and Use of Liquid Fuels Sitges, Spain, September 18–22, 2005.
10. Бобырева Т. В. Грибы авиационных материалов: топлива и резин. // Выпускная квалификационная работа магистра. — М. — 2017.
11. Комиссаров Н. С. Эколого-физиологическая характеристика микромицетов из донных грунтов Белого моря. // Выпускная квалификационная работа магистра. — М. — 2019.
12. Azambuja A. et al. Microbial community composition in Brazilian stored diesel fuel of varying sulfur content, using high-throughput sequencing // Fuel. — 2017. V. 189. P. 340–349.

ТЕСТОВЫЕ ШТАММЫ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ НА ГРИБОСТОЙКОСТЬ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Абсалямов С.Я.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН — обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

При проведении испытаний на грибовстойкость различных промышленных материалов и изделий для получения надежных результатов необходимо соблюдать все требования Государственных стандартов, в том числе в отношении тестовых организмов.

Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ) ответственна за сохранение и распространение микроорганизмов, используемых в испытаниях [1]. Перечень микроскопических грибов, рекомендуемых для проведения испытаний на грибовстойкость, предусмотренных Государственными и отраслевыми стандартами насчи-

тывает около 60 штаммов. Включенные в него культуры мицелиальных грибов обладают постоянно выраженной активностью (агрессивностью) к повреждению определенных материалов, что обеспечивается современными методами консервации штаммов. ВКМ регулярно отслеживает изменения наименований тест-организмов, связанных с развитием таксономии грибов, обладает сведениями о наличии данных культур в коллекциях мира, постоянно пополняет информацию о публикациях с использованием конкретных штаммов. Краткие результаты данной работы представлены в таблице.

Таблица — Перечень штаммов микроскопических грибов, рекомендуемых для проведения испытаний, предусмотренных Государственными и отраслевыми стандартами

Вид (наименование в ГОСТ)	Номер ВКМ F-	Соответствие номерам в спец. и зарубежных коллекциях	ГОСТ, где указан вид	Номера библиографических ссылок на данный штамм в каталоге ВКМ (www.vkm.ru)
<i>Acremonium strictum</i> (<i>Cephalosporium acremonium</i>)	2033		ГОСТ 9.085–78	629, 2068, 2156, 4117, 8031
<i>Alternaria alternata</i>	1120		ГОСТ 9.050–75 ГОСТ 30028.4–2006	1812, 2913, 3364, 3959, 4314, 5348, 6222, 6311, 6408, 6645, 6916, 7719, 7750, 7766, 7786, 7798, 7799, 7819, 8041

Продолжение таблицы

Вид (наименование в ГОСТ)	Номер ВКМ F-	Соответствие номерам в спец. и зарубежных коллекциях	ГОСТ, где указан вид	Номера библиографических ссылок на данный штамм в каталоге ВКМ (www.vkm.ru)
<i>Alternaria botrytis</i> (<i>A. humicola</i>)	737		ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 30028.2–93 ГОСТ 30028.1–93	2171
<i>Alternaria botrytis</i> (<i>Stemphylium pyriforme</i>)	705	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 30028.1–93	2171
<i>Aspergillus sojae</i> (<i>A. oryzae</i>)	2096	ATCC 14895; CBS 134.52; CCRC 30230; NRRL 1989	ГОСТ 9.049–91	468, 2153, 3534, 4314, 4925, 5378, 5808, 6645, 7571, 8130
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (<i>A. niger</i>)	1119	ATCC 9642; CBS 246.65; CCRC 31512; DSM 63263; FERM S–2; IFO 6342; IMI 91855; NRRL A–3536	ГОСТ 9.048–89 ГОСТ 9.049–91 ГОСТ 9.050–75 ГОСТ 9.052–88 ГОСТ 9.085–78 ГОСТ 9.802–84 ГОСТ 12.4.152–85 ГОСТ 16962–71 ГОСТ 20.57.406–81 ГОСТ 30028.4–2006 MIL-STD–810F	590, 1014, 1276, 1321, 1620, 1812, 2112, 2150, 2153, 2178, 2232, 3421, 3364, 3687, 3954, 4031, 4043, 4121, 4155, 4169, 4238, 4314, 4732, 4744, 5179, 5341, 5371, 5488, 5808, 5809, 5849, 5859, 5881, 5953, 5998, 6150, 6222, 6261, 6311, 6346, 6408, 6506, 6521, 6526, 6575, 6611, 6645, 6654, 6707, 6974, 6976, 7107, 7131, 7210, 7213, 7392, 7449, 7731, 7571, 7601, 7602, 7625, 7719, 7749, 7750, 7766, 7775, 7786, 7798, 7799, 7801, 7819, 7830, 7863, 8041, 8123, 8130, 8163, 8169, 8228
	3882	ATCC 16404; CBS 733.88; CECT 2574; DSM 1988; IFO 9455; IHEM 3794; IMI 149007; IP 1431.83; MUCL 30113; NCPF 2275	EN1650:1998	
<i>Aspergillus flavus</i>	25	ATCC 1003, AHU 7046; ATCC 1003; CBS 109.45; IMI 16145; NCTC 596; NRRL 1271;	ГОСТ 16962–71 ГОСТ 30028.1–93	1812, 4823
	1024			3534, 3719, 3812, 5378, 5462, 5604, 6192, 6961, 7012, 7633, 7640
<i>Aspergillus niger</i>	2039	ATCC 6275; CBS 769.97; CCRC 32073; CECT 2807; IFO 6341; DSM 1957; IMI 45551; NCIM 773; NHL NRRL 334	ГОСТ 28206–89, АWPА E24–06, MIL-STD–810F, ГОСТ 30028.1–93	1086, 1164, 1166, 1297, 6936, 7145, 7148, 8053
	2481			7663
<i>Aspergillus penicilloides</i>	4354	DSM 1623; VKPM F–1095	ГОСТ 9.048–89 ГОСТ 20.57.406–81	
<i>Aspergillus terreus</i>	1025		ГОСТ 9.048–89 ГОСТ 9.049–91 ГОСТ 9.050–75 ГОСТ 9.802–84 ГОСТ 12.4.152–85 ГОСТ 20.57.406–81 ГОСТ 30028.4–2006	1629, 1812, 1913, 2112, 2178, 4043, 4169, 4238, 4314, 4732, 4875, 4925, 5062, 5477, 5488, 5808, 5998, 6313, 6408, 6645, 7532, 7571, 7572, 7760, 7775, 7829, 8130, 8194
<i>Aspergillus versicolor</i>	1114	ATCC 11730; CBS 245.65; DSM 63301; IFO 30338; IMI 045554; CCF 73; CECT 2890; MUCL 19008; OECD 15	ГОСТ 16962–71 MIL-STD–810F	590, 3534, 4744, 5174, 5456, 5626, 5741

Продолжение таблицы

Вид (наименование в ГОСТ)	Номер ВКМ F-	Соответствие номерам в спец. и зарубежных коллекциях	ГОСТ, где указан вид	Номера библиографических ссылок на данный штамм в каталоге ВКМ (www.vkm.ru)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1116	ATCC 9348; CBS 621.80; CCRC 31981; DSM 2404; IMI 145194; NCIM 1049; QM 3090	ГОСТ 9.048–89 ГОСТ 28206–89 ГОСТ 20.57.406–81 АВРА Е24–06 ГОСТ 30028.1–93 ГОСТ 30028.2–93	590, 697, 854, 921, 1629, 1775, 1812, 2065, 2066, 2079, 2135, 2171, 2636, 2861, 2862, 3025, 4117, 6744, 6788
	3110	ATCC 15233; CBS 249.65; CCRC 32364; IFO 30557; IMI 045533; QM 279c; СЕСТ 2657; OECD 16	G 0021–96	2162, 4117
<i>Burgoa anomala</i>	1451	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 30028.1–93	
<i>Cadophora fastigiata</i> (<i>Phialophora fastigiata</i>)	706	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 30028.1–93	
<i>Chaetomium globosum</i>	109	LCP 679	ГОСТ 9.049–91 ГОСТ 9.085–78 ГОСТ 9.802–84 ГОСТ 12.4.152–85 ГОСТ 16962–71	1321, 1812, 2079, 2112, 2178, 4314, 4925, 5808, 5998, 6222, 6311, 6379, 6645, 7368, 7571, 7766, 7775, 7786, 7798, 7799, 8163, 8256
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (<i>Sporidesmium cladosporii</i>)	1697		ГОСТ 30028.4–2006	2029, 4117
<i>Cladosporium gossypiicola</i>	1902		ГОСТ 9.085–78	7663, 8027, 8031
<i>Cladosporium herbarum</i>	1686		ГОСТ 12.4.152–85 ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 30028.1–93 ГОСТ 30028.2–93 ГОСТ 24008–80	
<i>Coniophora puteana</i>	1803	Штамм ЦНИИСК	ГОСТ 16712–95 ГОСТ 28184–89	
<i>Discula pinicola</i> var. <i>mammosa</i>	709	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 30028.1–93	
<i>Eurotium amstelodami</i> (<i>Aspergillus amstelodami</i>)	15	LCP 142	ГОСТ 9.802–84 ГОСТ 16962–71 ГОСТ 30028.4–2006	1783, 1812, 2079
<i>Exophiala heteromorpha</i> (<i>E. jeanselmei</i> var. <i>heteromorpha</i>)	704	CBS 232.33; CDC B-2823; MUCL 9894; NCMH 17	ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 30028.1–93	
<i>Fusarium poae</i> (<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i>)	1606		ГОСТ 30028.4–2006	6319
<i>Fusarium culmorum</i>	2303		ГОСТ 30028.4–2006	5109, 5378, 5604, 7444
<i>Fusarium fujikuroi</i> (<i>F. moniliforme</i>)	136	ATCC 12616; BRL 917; CBS 183.29; DSM 893; IMI 58290	ГОСТ 9.050–75 ГОСТ 30028.4–2006	1812, 3186, 3190, 3213, 3291, 4314, 4648, 5109, 5378, 5604, 6067, 6222, 6645, 7766, 7786, 7798, 7799, 7819
<i>Fusarium javanicum</i>	712	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 30028.1–93	
<i>Fusarium merisoides</i>	3993		ГОСТ 30028.4–2006	5604

Продолжение таблицы

Вид (наименование в ГОСТ)	Номер ВКМ F-	Соответствие номерам в спец. и зарубежных коллекциях	ГОСТ, где указан вид	Номера библиографических ссылок на данный штамм в каталоге ВКМ (www.vkm.ru)
<i>Gliomastix murorum</i> var. <i>murorum</i> (<i>Torula convoluta</i>)	1903		ГОСТ 9.085-78	111, 8031
<i>Hormoconis resinae</i> (<i>Cladosporium resinae</i>)	1701		ГОСТ 9.023-74 ГОСТ 9.085-78	1321, 3421, 5461, 8163
<i>Leptographium lundbergii</i>	3911		ГОСТ 30028.4-2006 ГОСТ 30028.1-93 ГОСТ 30028.2-93	
<i>Neolentinus lepideus</i> (<i>Lentinus lepideus</i>)	710	Штамм ЦНИИМОД; IBK F-103	ГОСТ 28184-89	
<i>Paecilomyces marquandii</i> (<i>Verticillium marquandii</i>)	3554		ГОСТ 30028.1-93 ГОСТ 30028.2-93	
<i>Paecilomyces variotii</i>	378		ГОСТ 9.048-89 ГОСТ 9.049-91 ГОСТ 9.052-88 ГОСТ 9.802-84 ГОСТ 12.4.152-85 ГОСТ 16962-71 ГОСТ 30028.4-2006 ГОСТ 20.57.406-81 ГОСТ 30028.1-93	2112, 2178, 3364, 4238, 4314, 4925, 5808, 6645, 7571, 7775
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (<i>P. cyclopium</i>)	265	ATCC 8731; ATHUM 2888; CBS 114.74; CBS 144.45; CECT 2264; DSM 1250; FRR 1888; IMI 089372; MUCL 15613; NRRL 1888	ГОСТ 9.049-91 ГОСТ 9.052-88 ГОСТ 12.4.152-85 ГОСТ 16962-71 ГОСТ 30028.1-93	1812, 2079, 3082, 4314, 4659, 4660, 4662, 4663, 4814, 5808, 5998, 6408, 6603, 6645, 7368, 7571, 7775, 7897, 8041, 8130
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (<i>P. martensii</i>)	310	ATCC 10467; CBS 111.43; FRR 2027; IFO 8142; IMI 40211; MUCL 15618; NBRC 8142; NRRL 2027	ГОСТ 9.050-75	957, 3060, 3082, 3083, 4314, 6645
<i>Penicillium brevicompactum</i>	234		ГОСТ 9.050-75 ГОСТ 9.802-84 ГОСТ 16962-71 ГОСТ 30028.4-2006	1783, 1812, 2069, 2079, 2153, 3904, 6313, 6318, 6645
<i>Penicillium chrysogenum</i>	245		ГОСТ 9.048-89 ГОСТ 9.049-91 ГОСТ 9.050-75 ГОСТ 9.052-88 ГОСТ 9.085-78 ГОСТ 9.802-84 ГОСТ 12.4.152-85 ГОСТ 16962-71 ГОСТ 30028.4-2006 ГОСТ 20.57.406-81	1095, 1321, 1629, 1790, 2069, 2153, 4314, 4875, 4925, 5808, 5998, 6150, 6222, 6311, 6313, 6408, 6645, 7368, 7571, 7719, 7766, 7775, 7786, 7798, 7799, 7817, 8130, 8163

Окончание таблицы

Вид (наименование в ГОСТ)	Номер ВКМ F-	Соответствие номерам в спец. и зарубежных коллекциях	ГОСТ, где указан вид	Номера библиографических ссылок на данный штамм в каталоге ВКМ (www.vkm.ru)
<i>Penicillium ochrochloron</i>	1702		ГОСТ 28206–89, MIL-STD–810F, ГОСТ 9.048–89, ГОСТ 9.050–75	1629, 1812, 2153, 4043, 4121, 4155, 4169, 4314, 4732, 5062, 5604, 6346, 6645, 7760
	1827	ATCC 9112; ATCC 9824; CBS 110.66; CCM F–158; CCRC 31516; DSM 1945; IMI 61271; NCIM 1044; NRRL 744; USDA 1336.2	ГОСТ 9.085–78 ГОСТ 9.802–84 ГОСТ 30028.4–2006 ГОСТ 20.57.406–81	858
	2032			782, 6313, 8031
<i>Penicillium pinophilum</i> (<i>P. funiculosum</i>)	1115	ATCC 9644; CBS 170.60; CCRC 31621; DSM 1960; IFO 6345; NRRL A–5245; QM 391	ГОСТ 9.048–89, ГОСТ 9.049–91, ГОСТ 9.050–75, ГОСТ 9.802–84, ГОСТ 12.4.152–85, ГОСТ 20.57.406–81	1629, 1812, 2074, 2763, 4043, 4169, 4238, 4314, 4711, 4712, 4713, 4714, 4717, 4718, 4732, 4925, 5062, 5371, 5808, 5998, 6408, 6645, 7368, 7571, 7760, 7775
<i>Penicillium purpurogenum</i>	333		ГОСТ 30028.4–2006	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	721	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 28184–89	
<i>Schizophyllum commune</i>	715	Штамм ЦНИИМОД; ; BK F–97	ГОСТ 28184–89	
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	406		ГОСТ 9.048–89, ГОСТ 9.052–88, ГОСТ 20.57.406–81	1629, 2112, 2178, 5604, 6688, 7602, 7618
<i>Serpula lacrymans</i>	1741	Штамм ЦНИИМОД	ГОСТ 28184–89	5737, 7713, 7765
<i>Sordaria fimicola</i> (<i>Sordaria sp.</i>)	1563		ГОСТ 30028.1–93	5378
<i>Stachybotrys chartarum</i> (<i>S. atra</i>)	410	LCP 632	ГОСТ 16962–71	2232
<i>Trametes versicolor</i>	462	LCP 188	ГОСТ 28184–89	2090
<i>Trichoderma harzianum</i>	3962		ГОСТ 30028.1–93, ГОСТ 24008–80, ГОСТ 30028.4–2006	
<i>Trichoderma koningii</i>	1901		ГОСТ 9.085–78	8027, 8031
<i>Trichoderma virens</i> (<i>T. viride</i>)	1117	ATCC 9645; CBS 430.54; IAM 5061; IFO 6355; IMI 45 553; NRRL 2314; QM 365	ГОСТ 9.048–89, ГОСТ 9.049–91, ГОСТ 9.050–75, ГОСТ 9.085–78, ГОСТ 9.802–84, ГОСТ 12.4.152–85, ГОСТ 28206–89, ГОСТ 20.57.406–81, MIL-STD–810F G 0021–96	1276, 1321, 1443, 1620, 1629, 1812, 3364, 4314, 4568, 4925, 5409, 5808, 5998, 6342, 6359, 6408, 6645, 7559, 7644
<i>Trichoderma viride</i> (<i>T. lignorum</i>)	426		ГОСТ 16962–71	2232, 5526, 7775

Список литературы

1. ГОСТ 9.048–89 Единая система защиты от коррозии и старения. Изделия технические. Методы

лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. // Издательство стандартов: М., 1989. 22 с.

ВОЗДЕЙСТВИЕ МИКРОБИОТЫ ПОЧВЫ НА ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ПОЛИЛАКТИД — ПОЛИЭТИЛЕН

Подзорова М.В.^{1,2}, Тертышная Ю.В.²

¹ Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва

² Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

Способность полимеров разлагаться под действием микроорганизмов в почве зависит от ряда факторов таких, как химическая природа полимера, надмолекулярная структура, молекулярная масса. В связи с накоплением полимерных отходов в окружающей среде и проблемами с его утилизацией, все более активно ведутся разработки в области биоразлагаемых материалов. Данные материалы создаются на основе биоразлагаемых полимеров, к которым относятся полилактид, полигидроксibuтират, поликапролактон и другие.

Так, биоразлагаемость полилактида (ПЛА) зависит от окружающей среды, в которой он подвергается разложению: в человеческих или животных телах, ПЛА первоначально разлагается путем гидролиза и полученные растворимые олигомеры метаболизируются клетками. После утилизации ПЛА в окружающей среде, продолжается гидролиз полилактида до олигомеров с низкой молекулярной массой и затем окончательно разрушается до CO_2 и H_2O микроорганизмами, присутствующими в окружающей среде [1,2].

В работе [3] в процессе исследования инкубации ПЛА в почве при обычных условиях было установлено, что он медленно подвергается деструкции, и начало разложения происходит спустя несколько месяцев. В других работах [4,5] выявлено, что ПЛА-разрушающих микроорганизмов в окружающей среде значительно меньше, чем микроорганизмов, которые способны разлагать такие полимеры, как полигидроксibuтират (ПГБ) и поликапролактон (ПКЛ). Например, в работе [6] было установлено 39 штаммов бактерий, выделенных из почвы, видов *Firmicutes* и *Proteobacteria* способных разлагать ПГБ и ПКЛ.

Разложение ПЛА можно ускорить с помощью компостирования, где ПЛА гидролизуется на более мелкие молекулы (олигомеры, димеры и мономеры) через 45–60 дней при 50–60 °С, а затем до CO_2 и H_2O с помощью микроорганизмов в компосте.

В работе [7] проводилось исследование биодegradации ПЛА в компосте при 37 °С в присутствии *Stenotrophomonas maltophilia* после воздействия УФ длиной волны 245 нм (для ПЛА ультрафиолетовое излучение является активным деструктором [8]). После воздействия УФ снижается молекулярная масса ПЛА. В работе было показано, что после воздействия ультрафиолета происходит активный процесс биоразложения.

Одним из активных деструкторов ПЛА является штамм актиномицета *Amycolatopsis*, выделенного из почвы. Среди штаммов грибов выделяют *F. moniliforme* и *Penicillium roqueforti*. На сегодняшний день *Tritirachium album* относится к плесневым грибам, который активно участвует в разрушении ПЛА. Как было сказано выше ПЛА активно деструктурирует при повышенной температуре, таким образом существуют активные термофильные штаммы участвующие в процессе разрушения, к ним относятся такие штаммы, как *Brevibacillus sp.*, *Bacillus smithii*, *Geobacillus sp.* Важно отметить, что при

этом необходима температура выше 55 °С (т. е. выше температуры стеклования ПЛА).

В данной работе оценивалась возможность поражения пленок на основе полилактида и полиэтилена низкой плотности при инкубации в грунте, приготовленного по ГОСТ 9.060–75 [9]. Перед началом исследования был проанализирован полученный грунт.

Большинство микроорганизмов, особенно плесневые грибы, проявляют активность в процессе биоразложения полимеров. Грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Fusarium* относятся к наиболее активным разрушителям пластиков, вызывающим различные повреждения и их деструкцию. Эти плесневые грибы используют в стандартных тестах на биоустойчивость. Повреждения пластиков происходят в результате разрастания грибов на поверхности материала, проникновения мицелия в его толщу через микротрещины, а также вследствие агрессивного воздействия ферментов и метаболитов грибов (органических кислот) на отдельные компоненты пластиков [10].

Ранее в работах [11,12] исследовался данный грунт на наличие активной микробиоты. Для микологической характеристики грунта было проведено микробиологическое исследование с использованием среды Чапека для выявления активных плесневых грибов (рисунок 1).

В результате исследования выявлено, что в почве наиболее активными деструкторами являются плесневые грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Trichoderma*. Для установления видов грибов был проведен рассев мицелия на стерильные чашки Петри с агаризованной средой. Спустя 2 недели был произведен анализ грибов проросших в чашках Петри.

Рисунок 1 — Плесневые грибы *Penicillium chrysogenum* (а/а') (×500 раз), *Aspergillus flavus* (б/б') (×700 раз): вид колонии на чашке Петри/плесневый гриб под микроскопом

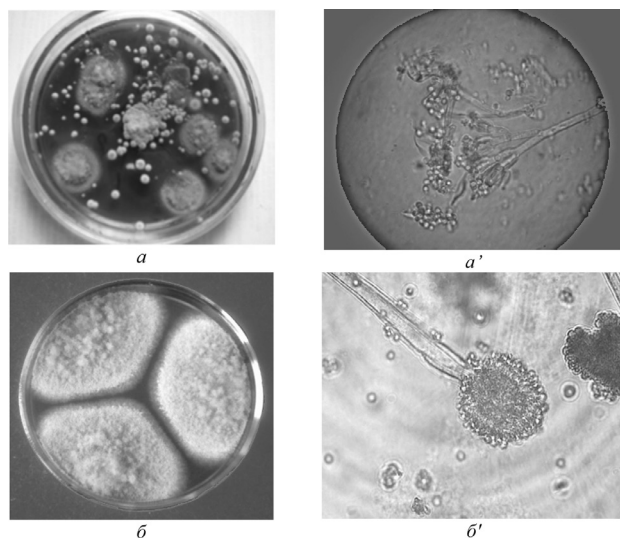
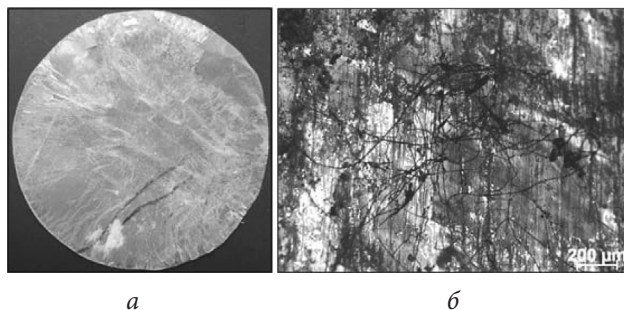


Рисунок 2 — Фотографии композиции 30ПЛА:70ПЭНП: общий вид после экспонирования в открытом грунте в течении 24 месяцев (а), микрофотография композиции (б) в проходящем свете, увеличение 1:50



Объектами исследования являлись смеси на основе полилактида (ПЛА) и полиэтилена низкой плотности (ПЭНП). Для создания композиционных материалов были подобраны промышленно производимые ПЭНП марки 15803-020 (ГОСТ 16337) Россия, ОАО «НефтеХимСэвилен», молекулярная масса — $2,0 \times 10^5$, ПТР — 1,5–2,0 г/10 мин) и ПЛА марки 4032D, США, Nature Works, молекулярная масса — $1,7 \times 10^5$, ПТР — 3,5–4,5 г/10 мин). Основное внимание уделено смесям, содержащим ПЛА в количестве 20, 30, 50, 70, 80, 100 мас. %. Исследование проводилось как в лабораторных условиях в течении 12 месяцев, так и в открытом грунте в естественных условиях окружающей среды в течении 24 месяцев [13].

Основной эксперимент проводился в условиях постоянной температуры (22 ± 2) °C и влажности ($60 \pm 5\%$). При инкубации образцов после 12 месяцев в лабораторном грунте наибольшая потеря массы (Δm) отмечается у композиций, близких к инверсии фаз, особенно у смеси 50ПЛА:50ПЭНП — 18%. Для остальных образцов Δm составляет 5–10%.

В процессе исследования композиций при натуральных испытаниях в течении 24 месяцев установлено, что образцы имеют помутнения, трещины и поры. Помутнение особенно заметно в образцах с большим содержанием ПЛА, который подвергается гидролитической деструкции.

Важно отметить, что при экспонировании в естественных условиях некоторые композиции ПЛА:ПЭНП (30ПЛА:70ПЭНП, 50ПЛА:50ПЭНП, 100ПЛА) характеризуются большей интенсивностью биологического обрастания поверхности по сравнению с материалами, подвергнутыми лабораторным испытаниям (рисунок 2). Этот факт можно объяснить большей концентрацией микроорганизмов в почвенном грунте полигона [14].

На рисунке 2 видны признаки развития мицелиальных грибов. А также, отмечается повреждение приповерхностных слоев, заметно появление трещин, что может облегчать взаимодействие материала с продуктами метаболизма микроорганизмов.

При изучении кинетики потери массы в условиях окружающей среды установлено, что наибольшая потеря массы составляет 11% для композиции 20ПЛА:80ПЭНП. В свою очередь, другие композиции, близкие к инверсии фаз, также как и при лабораторных испытаниях показывают снижение массы. Но необходимо учитывать, что для ПЛА желательными условиями для биоразрушения является компостирование, как уже ранее было отмечено в работе.

Список литературы

1. Tokiwa Y. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide) / Y. Tokiwa, B. P. Calabia // Applied Microbiology and Biotechnology. — 2006. — № 72. — pp. 244–251.
2. Lunt J. Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers / J. Lunt // Polymer Degradation and Stability. — 1998. — № 59. — pp. 145–152.
3. Ohkita T. Thermal degradation and biodegradability of poly(lactic acid)/corn starch biocomposites / T. Ohkita, S.H. Lee // Journal of Applied Polymer Science. — 2006. — № 100. — pp. 3009–3017.
4. Pranamuda H. Polylactide degradation by an Amycolatopsis sp. / H. Pranamuda, Y. Tokiwa, H. Tanaka // Applied and Environmental Microbiology. — 1997. — № 63. — pp. 1637–1640.
5. Tokiwa, Y. Biodegradability and biodegradation of polyesters / Y. Tokiwa, B.P. Calabia // Journal of Polymers and the Environment. — 2007. — № 15. — pp. 259–267.
6. Tansengco M.L. Comparative population study of aliphatic polyesters-degrading microorganisms at 50 °C / M.L. Tansengco, Y. Tokiwa // Chemistry Letters. — 1998. — V. 27. — pp. 1043–1044.
7. Jeon H. J. Biodegradation of poly(L-lactide) (PLA) exposed to UV irradiation by a mesophilic bacterium / H. J. Jeon, M.N. Kim // International Biodeterioration & Biodegradation. — 2013. — № 85. — pp. 289–293.
8. Тертышная Ю.В. Влияние ультрафиолетового излучения на структурно-динамические характеристики Полилактида и его смесей с полиэтиленом / Ю.В. Тертышная, М.В. Подзорова // Химическая физика. — 2020. — Т. 39. — № 1. — С. 57–65.
9. ГОСТ 9.060–75 Ткани. Метод лабораторных испытаний на устойчивость к микробиологическому разрушению. М.: 1977.
10. Rocca-Smith R. Impact of corona treatment on PLA film properties / R. Rocca-Smith, T. Karbowski, E. Marcuzzo, A. Sensidoni, F. Piasente, D. Champion, O. Heinz, P. Vitry, E. Bourillot, E. Lesniewska, F. Debeaufort // Polymer Degradation and Stability. — 2016. — V. 132. — pp. 109–116.
11. Тертышная Ю.В. Деградация в почве и воде поли-3-гидроксипропионата и композиций на его основе / Ю.В. Тертышная, Л.С. Шибряева, А.А. Попов // Пластические массы. — 2011. — № 7. — С. 46.
12. Пантюхов П.В. Особенности структуры и биодеградации композиционных материалов на основе полиэтилена низкой плотности и растительных наполнителей: дис. ...канд. хим. наук: 02.00.06 / Пантюхов Петр Васильевич; [Место защиты: ИБХФ РАН]. — Москва, 2013. — 127 с.
13. Podzorova M.V. Influence of different factors on the destruction of films based on polylactic acid and oxidized polyethylene / M.V. Podzorova, Yu.V. Tertyshnaya, P.V. Pantyukhov, L.S. Shibryaeva, A.A. Popov, S.G. Nikolaeva // AIP Conference Proceedings. — 2016. — V. 1783. — 020185.
14. Подзорова М.В. Разрушение в почве бинарных смесей на основе полилактида и полиэтилена / М.В. Подзорова, Ю.В. Тертышная // Журнал прикладной химии. — 2019. — Т. 92. — № 6. — С. 737–744.

ПОИСК СТЕРОИДТРАНСФОРМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ У ГРИБОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ

Потапов М.П.¹, Нураева Г.К.², Стыценок Т.С.², Карпова Н.В.², Ядерец В.В.², Жгун А.А.²

¹Московский Политехнический Университет, Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, институт Биоинженерии, Москва

Трансформация стероидов — важный биотехнологический процесс, необходимый для получения стероидных лекарственных препаратов. В силу специфичности своей структуры, стероиды крайне трудно трансформируются химическими методами. Поэтому, необходимая стеро- и региоспецифичность достигается в результате селективной работы активных центров метаболизирующих ферментов, в первую очередь, цитохромов P450 (CYP450), осуществляющих окислительное гидроксирование и другие ферментативные модификации стероидных субстратов. В отдельных мицелиальных грибах насчитывается до 150-ти и выше цитохромов P450 [1], большинство, из которых в настоящее время не охарактеризовано. Поэтому актуальной задачей является скрининг мицелиальных грибов для выявления их способности к модификации стероидной молекулы. Также известно, что присутствие в ростовой среде стероидных соединений приводит к апрегуляции генной экспрессии цитохромов P450, что приводит к возникновению соответствующей активности [2]. Использование рекомбинантных CYP450 для трансформации стероидов *in vitro* затруднено в силу специфики работы этих ферментов — на мембранах, в составе электрон-передающих цепей (НАДФН — НАДФН-CYP450-редуктаза — CYP450). Реконструировать такую систему *in vitro* для эффективной трансформации крайне трудно. В связи с этим, основным подходом для трансформации стероидов является использование селективного штамма, способного в оптимизированных условиях к их стереоспецифической модификации. Для создания таких промышленных штаммов-трансформаторов на первом этапе необходимо осуществить скрининг микроорганизмов на наличие целевой трансформационной активности.

Целью нашей работы явился первичный скрининг мицелиальных грибов, способных эффективно расти на материалах, используемых в темперной живописи [3,4]. Поскольку основным компонентом темперных красок является яичный желток, содержащий 150–250 мг холестерина (на куриное яйцо) [5], грибы-деструкторы этих материалов интересны для поиска биотрансформационной активности стероидов. В нашей работе использовали 10 культур плесневых грибов, изолированных ранее с экспонатов темперной живописи 15–16 вв. в Государственной Третьяковской галерее [3] и генотипированных после секвенирования межгенных районов рДНК [4,6]: *Aspergillus versicolor* STG–25G (SRX7729174; MK260015.1), *Ulocladium chartarum* STG–36 (SRX7729176), *Cladosporium halotolerans* STG–52B (SRX7729178; MK258720.1), *Aspergillus creber* STG–57 (SRX7729180; MK266993.1), *Aspergillus versicolor* STG–86 (SRX7729182; MK262781.1), *Aspergillus sp* STG–93W (SRX7729186), *Cladosporium parahalotolerans* STG–93B (SRX7729188; MK262909.1), *Microascus paisii* STG–103 (SRX7729192) и *Aspergillus amoenus* STG–106 (SRX7729194; MK268342.1).

В результате культивирования на среде F (г/л: сахара 30, дрожжевой экстракт 5, NaNO₃ 2, (NH₄)H₂PO₄ 3, KCl 0,5, MgSO₄ × 7H₂O, pH 5,5–6,0), 72 ч, 26 °С), отобрали 5 культур (*A. versicolor* STG 25G, *U. chartarum* STG–36STG, *C. halotolerans* STG–52B, *S. lamellicola* STG–96 и *A. amoenus* STG–106), продемонстрировавших наилучшие ростовые показатели. Трансформацию андростендиона (АД) в количестве 1 г/л проводили в условиях растущей культуры на среде F. Трансформационную активность определяли на 24 и 48 часы после внесения исходного субстрата. Для сравнения трансформационных свойств выбранных культур использовали активность промышленного штамма *Curvularia lunata* ВКПМ F–981 [7], обладающего способностью вводить гидроксильную группу в 14α-положение АД и для которого определены основные продукты трансформации АД. Штамм *C. lunata* культивировали несколькими способами: в варианте 1 использовали среду F, во втором варианте использовали последовательную комбинацию сред N (г/л: сахара 30, пептон 5, дрожжевой экстракт 5, соевая мука 10, KH₂PO₄ 2, MgSO₄ × 7H₂O 0,5, pH 6,2) и H (г/л: сахара 30, дрожжевой автолизат 7, NaNO₃ 2, KH₂PO₄ 1, (NH₄)H₂PO₄ 3, KCl 0,5, MgSO₄ × 7H₂O 0,5, pH 6,0–6,1), F и N.

В результате, для штамма STG–25G — не была выявлена никакая-либо трансформационная активность. Для штамма STG–36 через 24 ч после добавления АД, наряду с нетрансформированным исходным субстратом, был обнаружен тестостерон (ТС), в относительно небольших количествах, который спустя 48 ч не детектировался в пробах. Из этого можно сделать вывод о целесообразности оптимизации условий культивирования для этого штамма. У штамма STG–52B через 24 и 48 ч происходила активная трансформация АД. Основным продуктом являлся 11α-ОН-АД. Также были выявлены еще 4 производных АД, не совпадающих с продуктами трансформации АД с *C. lunata* стероидные производные. Штамм STG–96 также показал наличие трансформационной активности по отношению к АД. Через 24 и 48 ч основным продуктом являлся 14α-ОН — АД с примесью других неидентифицированных стероидных производных. Для STG–106 также была выявлена трансформационная активность по отношению к АД. Через 24 и 48 ч в трансформационной среде наблюдалось образование 14α-ОН-АД как основного продукта и ряд неидентифицированных стероидных производных в следовых количествах.

Таким образом, наши эксперименты продемонстрировали, что грибы-деструкторы темперной живописи способны эффективно трансформировать АД. На следующем этапе работы планируется оптимизировать условия трансформации и расширить количество трансформируемых стероидов, например, использовать андростендиендион (АДД) и кортексолон (S).

Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-04349.

Список литературы

1. Chen W. et al. Fungal Cytochrome P450 Monooxygenases: Their Distribution, Structure, Functions, Family Expansion, and Evolutionary Origin // *Genome Biol. Evol.* Oxford Academic, 2014. Vol. 6, № 7. P. 1620–1634.
2. Felpeto-Santero C. et al. Identification and expression of the 11 β -steroid hydroxylase from *Cochliobolus lunatus* in *Corynebacterium glutamicum*. // *Microb. Biotechnol.* Wiley-Blackwell, 2019. Vol. 12, № 5. P. 856–868.
3. Zhgun A.A. et al. Detection of biodeterioration on materials used in tempera painting // *Znan. misel J.* 2018. Vol. 1, № 19. P. 7–15.
4. Zhgun A.A. et al. Genotyping of microorganisms capable of damaging materials used in tempera painting // *Znan. misel J.* 2018. Vol. 20, № 1. P. 6–13.
5. Clayton Z.S., Fusco E., Kern M. Egg consumption and heart health: A review // *Nutrition.* 2017. Vol. 37. P. 79–85.
6. Zhgun A.A., Potapov M.P., Avdanina D.A. Optimization of preparation stages for metagenomic sequencing of samples taken from XVI century tempera painting in State Tretyakov Gallery // *Colloquium-journal.* 2019. Vol. 17 (41), № 7. P. 4–12.
7. Karpova N. V. et al. A search for microscopic fungi with directed hydroxylase activity for the synthesis of steroid drugs // *Appl. Biochem. Microbiol.* Springer, 2016. Vol. 52, № 3. P. 316–323.

БИОДЕСТРУКЦИЯ ПОЛИМЕРНОГО ВОЛОКНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКРОМИЦЕТОВ ПОЧВЫ

Тертышина Ю.В.^{1,2}, Попов А.А.^{1,3}, Подзорова М.В.^{2,3}

¹*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва*

²*Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, Москва*

³*Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва*

Изучение грибостойкости и возможность поражения полимерных материалов различными микроорганизмами исследуется уже давно [1–3]. Обнаружены микроорганизмы, которым не страшны очень высокие и очень низкие температуры окружающей среды. Как известно, биоразрушение осуществляется многими низшими организмами, но плесневые грибы, занимают первое место по силе воздействия и количеству видов. Исследование биодеструкции полимерных материалов плесневыми грибами остается актуальным и сегодня, так как создаются новые полимеры и полимерные материалы.

После использования часть полимерных отходов оказывается в окружающей среде, часто негативно влияя на растения, животных, водные ресурсы и почву. Для оценки подобного влияния, необходимо изучать

процессы разрушения полимерного материала при различных температурах, в условиях повышенной влажности, в различных видах почвогрунта, в том числе возможность поражения плесневыми грибами.

К вышеуказанным полимерам относятся: полилактид, поликапролактон, поли-3-гидроксibuтират, структура и свойства которых изучаются не один десяток лет [4, 5].

Поли-3-гидроксibuтират (ПГБ) — линейный полиэфир, относится к классу полиоксиалканоатов. ПГБ извлекают из биомассы бактерий определенного штамма, который культивируют на питательных углеводных средах [6]. Биоразлагаемый полилактид (ПЛА) получают в две стадии: путем молочнокислого брожения сусла с последующей полимеризацией. Источником сырья для обоих полимеров являются отходы свекловичного,

кукурузного и зернового производства, что является несомненным плюсом по сравнению с полимерами, получаемыми из нефти.

Цель данной работы — исследовать возможность поражения плесневыми грибами нетканых волокнистых материалов из природных полимеров: поли-3-гидроксibuтирата и полилактида.

Волокнистые материалы были получены современным методом электроформования. Электроформование — процесс, включающий в себя гидродинамику слабопроводящих жидкостей и фазовые превращения — испарение растворителя и отведение полимерного волокна.

Биодеградация в почве

Почвенный тест на восстановленном грунте проводили, используя почвогрунт, приготовленный согласно ГОСТ 9.060-75. В ходе эксперимента образцы полимеров помещали в почву при $T=22\pm 3$ °С, в которой поддерживалась влажность 60–65% с помощью регулярного полива и замера влажности специальным щупом-измерителем ЕТР-301 (Россия). Результат оценивали после 60 дней биодеградации.

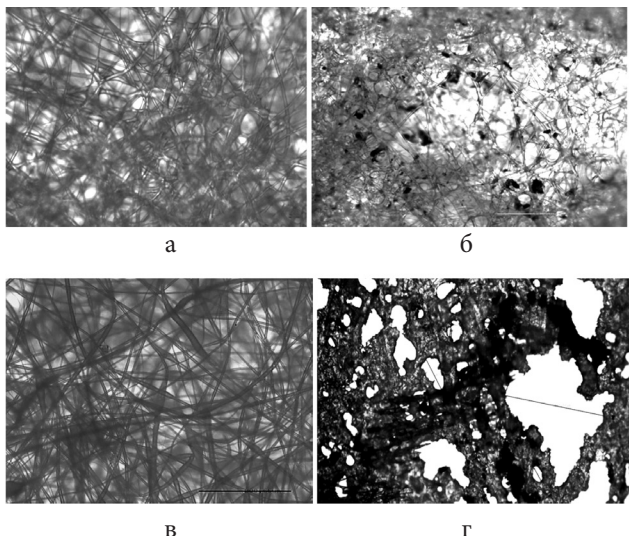
Методом оптической микроскопии были получены изображения образцов волокнистого материала из ПЛА и ПГБ до и после деградации в почве в течение 60 дней (рисунок). Заметно, что после воздействия микроорганизмов почвы на волокна появились темные пятна (рис. б), которые не удаляются после промывания водой. Однако явно видно, что процесс биодеструкции наиболее глубоко протекает в волокнистом образце поли-3-гидроксibuтирата (рис. г).

Видимо, из-за более «зеленого» способа получения ПГБ микроорганизмам: плесневым грибам и бактериям, легче воздействовать на поли-3-гидроксibuтират.

При изучении почвогрунта и посева на агаризованную среду было выделено несколько родов плесневых грибов, которые включены в ГОСТ по оценке грибоустойкости.

Тест на грибоустойкость

Рисунок — Волокнистый материал из ПЛА исходный (а) и после 60 дней деградации в почве (б) и ПГБ исходный (в) и после деградации в почве (г). Фотография (а) — $\times 200$, (б, в) — $\times 100$, (г) — 40



Испытания на грибоустойкость проводили по ГОСТ 9.049-91, используя 3-й метод. Согласно данному методу, использовали жидкую среду Чапека — Докса с сахарозой, разбрызгивая суспензию из пульверизатора. Затем материалы инкубировали в среде влажного и теплого воздуха, после чего визуально оценивали рост и развитие грибов на образцах по шкале от 0 до 5 баллов. Для микробиологического исследования готовили образцы полимерных материалов в виде полосок размером 10×1 см, которые очищали и стерилизовали этанолом, а затем сушили в чашках Петри.

Таблица — Рост и развитие плесневых грибов на полимерных материалах (среда Чапека-Докса ГОСТа 9.049-91) ПГБ (ПЛА)

Вид гриба	Баллы по шкале от 0 до 5
Aspergillus niger	55
	45
Aspergillus flavus	55
	34
Penicillium chrysogenum	55
	34
Penicillium purpurogenum	55
	44
Trichoderma viride	55
	44
Смешанная культура грибов	55
	55

Примечание: Баллы (цифры): первая — 28 дней инкубации, вторая — 56.

Согласно проведенным экспериментам, можно заключить, что волокнистый материал из поли-3-гидроксibuтирата (ПГБ) подвергается биодеструкции плесневыми грибами гораздо активнее, чем из полилактида (ПЛА). Процесс развития мицелия у плесневых грибов зависит от многих факторов, поэтому нельзя сказать однозначно, почему так происходит [7]. Возможно, данный факт можно объяснить процессом получения вышеуказанных полимерных материалов. ПГБ получают путем микробиологического синтеза в одну стадию, а в случае ПЛА получают сначала мономер — молочную кислоту, которую затем подвергают полимеризации.

Список литературы

1. Подзорова М.В., Тертышная Ю.В., Пантюхов П.В., Попов А.А. Биоразрушение полимерных композиций полиэтилен — полигидроксibuтират микроорганизмами почвы // В сб.: Современная микология в России. Материалы III Международного микологического форума. 2015. С. 294–297.
2. Тертышная Ю.В., Пантюхов П.В., Ольхов А.А., Попов А.А. // Пластические массы. 2012. № 5. — С. 61–63.
3. Сычугова О.В., Колесникова Н.Н., Лихачев А.Н., Попов А.А. // Пластические массы. 2004. № 9. — С. 29–33

4. Tertyshnaya Yu.V., Shibryaeva L.S., Ol'khov A.A. // Polym. Science. Series B. 2002. Т. 44. №11–12. Р. 287–290.
5. Ольхов А.А., Иорданский А.Л., Шибряева Л.С., Тертышная Ю.В. // Химическая физика. 2015. Т. 34. № 7. С. 62–68.
6. Бонарцева Г.А., Мышкина В.Л., Загреба Е.Д., Николаева Д.А. Способ получения поли-β-оксибутирата заданной молекулярной массы. Патент на изобретение RUS 2201453–18.10.2001.
7. Толстихина Т.Е. Ауторегуляция прорастания спор почвенных грибов // Дисс. к.б.н., Москва. 2007. С. 122.

ПОЛУЧЕНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО БИОДЕСТРУКТОРА ПОЖНИВНЫХ ОСТАТКОВ ПУТЕМ МУЛЬТИБИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ МОНО-, БИ- И ТРИКУЛЬТУРЫ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ

Титова Ю.А., Новикова И.И., Краснобаева И.Л., Бойкова И.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

Использование биопрепаратов — деструкторов стерни позволяет значительно ускорить процесс минерализации растительных остатков, улучшить плодородие за счет обогащения почвы природными витаминами, ферментами, гормонами роста растений, аминокислотами и микроэлементами, уничтожить патогенов, попадающих в почву с растительными остатками, и тем самым увеличить продуктивность сельскохозяйственных культур на 10–30% [1–3].

Виды *Trichoderma* — аборигены растительных отходов с широким соотношением С:N, что позволяет использовать их в качестве продуцентов биопрепаратов — деструкторов пожнивных остатков [4,5]. Участвуя в разложении органических соединений, штаммы *Trichoderma* обогащают почву водорастворимыми и доступными для растения формами питательных веществ. Кроме того, они обладают высокими антагонистической, за счет выработки широкого спектра антибиотиков, и гиперпаразитической активностями в отношении возбудителей болезней, локализующихся в почве, повышают болезнеустойчивость растений, обладают ростостимулирующей активностью, влияя на эффективность утилизации азота [6–9].

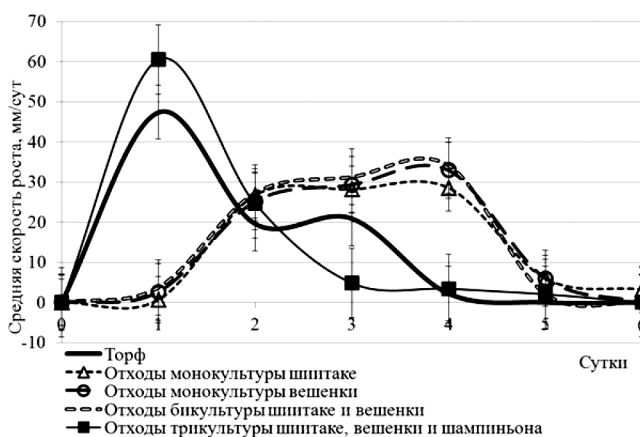
В «Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей» (ГКМ) ФГБНУ ВИЗР, зарегистрированной в WFCC WDCM 760 (Япония) 28.01.1998 г., задепонирован новый психро-

фильный штамм-биодеструктор растительных остатков *T. asperellum* Т-37. Штамм получен путем поддерживающей селекции полевых реизолатов *T. asperellum* Г-034, для разработки на его основе низкотемпературных биопрепаратов для разложения стерни [10].

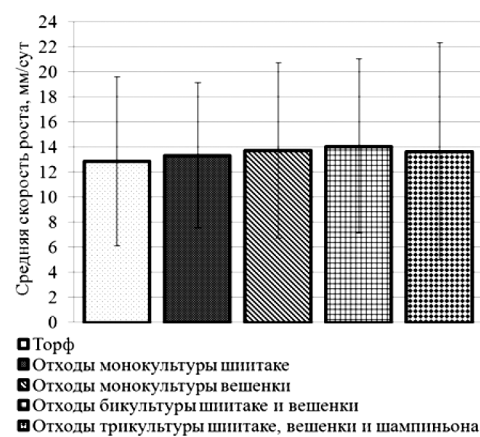
Цель настоящей работы — получить лабораторные образцы (ЛО) низкотемпературного биодеструктора пожнивных остатков путем мультибиоконверсии отходов моно-, би- и трикультуры съедобных макромицетов. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи: оценить эффективность мультибиоконверсии отходов моно-, би- и трикультуры *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 4080 (шиитаке), *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. НК-35 (вешенки) и *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach X-22 (шампиньона) с помощью *T. asperellum* Т-37 в лабораторных условиях по параметрам скорости роста и споропродуктивности.

Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ВИЗР. Материалами исследований были конверсионные отходы моно-, би- и трикультуры съедобных грибов. Для получения и хранения чистой культуры, а также наработки инокуляма *T. asperellum* Т-37 использовали агаризованные и жидкие питательные среды: Чапека и на основе водных экстрактов конверсионных субстратов. Приготовление, стерилизацию сред и конверсионных субстратов, мелкообъемное лабораторное культиви-

Рисунок — Показатели развития *T. asperellum* Т-37 на мультиконверсионных отходах производства съедобных грибов: а — динамика роста мицелия; б — средняя скорость роста



а



б

Таблица — Споропродуктивность и динамика титра ЛО мультиконверсионных биопрепаратов на основе штамма *T. asperellum* T-37

ЛО T-37, Г ¹ на отходах съедобных грибов	Титр									
	иноку- кулюма ² , КОЕ/мл	на отходах, КОЕ/г	при хранении, КОЕ/г, температура °С							
			3 мес.		6 мес.		12 мес.		18 мес.	
			4-8	22-24	4-8	22-24	4-8	22-24	4-8	
<i>KLe</i>	2,4×10 ¹⁰	2,4×10 ¹⁰	2,2×10 ¹⁰	2,0×10 ¹⁰	2,2×10 ¹⁰	5,1×10 ⁹	2,1×10 ¹⁰	6,2×10 ⁷	1,1×10 ¹⁰	
<i>KPo</i>	3,2×10 ¹⁰	2,9×10 ¹²	3,1×10 ¹²	2,4×10 ¹⁰	3,3×10 ¹²	3,5×10 ⁹	2,0×10 ¹²	2,6×10 ⁷	1,1×10 ¹²	
<i>KLePo</i>	0,9×10 ¹¹	4,3×10 ¹¹	3,5×10 ¹¹	2,3×10 ¹¹	2,1×10 ¹⁰	6,8×10 ⁹	7,2×10 ⁹	3,2×10 ⁸	1,8×10 ⁹	
<i>KLePoAb</i>	–	1,2×10 ¹²	1,0×10 ¹²	0,8×10 ¹²	2,8×10 ¹¹	1,3×10 ¹⁰	6,5×10 ⁹	4,7×10 ⁸	3,8×10 ⁸	
Торф (кон- троль)	–	0,9×10 ¹²	0,8×10 ¹²	0,9×10 ¹²	1,7×10 ¹¹	1,8×10 ¹⁰	5,2×10 ¹⁰	1,1×10 ¹⁰	1,2×10 ⁹	

Примечания: ¹ — ЛО гранулированных биопрепаратов на основе *T. asperellum* T-37; ² — при жидкофазном культивировании на водных экстрактах из (мульти) конверсионных отходов; *KLe* — конверсионный монокультуры шиитаке; *KPo* — монокультуры вешенки; *KLePo* — бикультуры шиитаке и вешенки; *KLePoAb* — трикультуры шиитаке, вешенки и шампиньона.

рование в чашках Петри и стеклянных банках (250 мл) осуществляли по описанным методикам [11–13]. Эффективность мультибиоконверсии *T. asperellum* T-37 оценивали по скорости линейного роста (мм/сут), конидиогенезу и споропродуктивности. В качестве контроля использовали нестерильный низинный торф (торфяная форма биопрепарата) [13]. Для статистической обработки результатов применяли расчеты стандартных ошибок (SEM) и t-критерия Стьюдента для попарного сравнения вариантов (Microsoft Excel 2010, Statistica 6).

Полученные результаты представлены на рисунке 1 и в таблице 1. Одинаковую динамику средних скоростей роста мицелия *T. asperellum* T-37 наблюдали на отходах монокультур и бикультуры ксилотрофов: максимальные скорости роста в пределах ошибки измерений фиксировали на 4-е сутки роста штамма-продуцента (рис. 1а). Динамика скорости роста исследуемого штамма в контроле на нестерильном торфе сходна с таковой на отходах трикультуры съедобных макромицетов: максимальные скорости роста в пределах ошибки измерений выявили уже на 1-е сутки роста *T. asperellum* T-37 (Рисунок 1а). Анализ данных, представленных на рисунке 1б, свидетельствует об отсутствии достоверных отличий в интегральных показателях скорости роста *T. asperellum* T-37 как в контроле, так и на любом из мультиконверсионных субстратов (рис. 1б).

Минимальную споропродукцию *T. asperellum* T-37 отмечали на отходах монокультуры шиитаке, на мультиконверсионных отходах споропродуктивность штамма-продуцента была в 10–20 раз выше и коррелировала с контролем (таблица). При низкотемпературном хранении ЛО гранулированного биопрепарата на основе *T. asperellum* T-37 на отходах монокультур уменьшения титров не выявляли, а на отходах би- и трикультуры отмечали падение титров на порядок каждые 6 месяцев. Хранение при комнатной температуре нецелесообразно вследствие больших потерь в титрах — уменьшение в 30–40 раз (Таблица 1).

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о возможности использования отходов монокультур, а также последовательных би- и трикультур шиитаке, вешенки и шампиньона для получения и хранения на основе *T. asperellum* T-37 низкотемпературного биодеструктора пожнивных остатков. Биопрепарат

на основе изученного штамма хорошо зарекомендовал себя в низкотемпературном разложении 80 % целлюлозы и 50 % лигнина пожнивных остатков кукурузы в течение 12 месяцев [10]. Необходимо отметить возможность получения линейки биопрепаратов, востребованных в сельском хозяйстве, на основе активных штаммов *T. asperellum*, путем мультибиоконверсии отходов культивирования съедобных грибов [4,6,8,9,13].

Список литературы

1. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М.: Изд-во ВНИИА, 2005. 302 с.
2. Schenck zu Schweinsberg-Mickan M., Müller T. Impact of effective microorganisms and other biofertilizers on soil microbial characteristics, organic matter decomposition, and plant growth. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2009. 172(5):704–712.
3. Русакова И.В. Биопрепараты для разложения растительных остатков в агроэкосистемах. *Juvenis scientia*. 2018. 9:4–9 DOI: 10.32415/jsscientia. 2018.09.01.
4. Bheemaraya P.M.B., Ramesh N.M.K., Kalyanrao. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma* species. *J. Mycol. Plant Pathol*. 2011. 41(4):618–621.
5. Тарасов С.А., Шершнева О.М. Использование микробиологических препаратов для ускорения деградации соломы. *Вестник Курской государственной академии*. 2014. 6:41–45.
6. Лазарев В.И., Айдиев Ф.Я., Тарасов С.А. Разложение пшеничной соломы под влиянием микробиологических препаратов Гуапсин и Трихофит. *Земледелие*. 2014. 8:20–22.
7. Садыкова В.С., Третьякова И.Н., Носкова Н.Е., Бондарь П.Н. Антагонистическая и ростостимулирующая активность штаммов рода *Trichoderma* и перспективы их использования в биоконтроле. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2009.2:71–72.
8. Devi P., Prabhakaran N., Kamil D., Pandey P., Borah J.L. Characterization of Indian native isolates of *Trichoderma* spp. and assessment of their biocontrol efficiency against plant pathogens. *Afr. J. Biotech.* 2012. 11(85):15150–15160 DOI: 10.5897/AJB12.2007.
9. Heidi I.G., Abo-Elnaga. Biological control of damping off and root rot of wheat and sugar beet with *Trichoderma*

- ma harzianum*. Plant Pathol. J. 2012. 11(1):25–31. DOI: 10.3923/ppj2012.25.31.
10. Новикова И.И., Титова Ю.А., Бойкова И.В., Краснобаева И.Л. Направленная селекция психрофильного штамма *Trichoderma asperellum* Г-034 ВИЗР для ускоренной утилизации полимеров растительных остатков и оздоровления почвы. Вавиловский ж-л генетики и селекции. 2019. 23(3):228–236. DOI: 10.18699/VJ19.497.
11. Титова Ю. А. Мультибиоконверсия отходов техногенной сферы съедобными грибами. Вестник защиты растений. 2016. 3(89):166–168.
12. Методы экспериментальной микологии: Справочник. Под ред. В. Н. Билай. Киев: Наук. думка. 1982. 550 с.
13. Титова Ю.А., Новикова И.И., Бойкова И.В., Павлюшин В.А., Краснобаева И.Л. Мультибиоконверсионные твердофазные биопрепараты нового поколения на основе *Bacillus subtilis* и *Trichoderma asperellum* повышают эффективность защиты картофеля от фитофтороза. Сельскохозяйственная биология. 2019. 54(5):1002–1013 DOI: 10.15389/agrobology.2019.5.1002rus.

ВКЛАД МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ В ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЧНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕТОННЫХ КОНСТРУКЦИЙ

Яковлева Г.Ю.¹, Сагадеев Е.В.², Строганов Ю.Ф.², Ильинская О.Н.¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет

² Казанский государственный архитектурно-строительный университет

Проблема биологического повреждения минеральных строительных материалов и конструкций на их основе многогранна и охватывает все виды промышленности. Причинами биоповреждений являются три основных процесса: механический; ассимиляционный, когда материалы являются источником питания и энергии микроорганизмов; и диссимиляционный, при котором происходит взаимодействие материалов с агрессивными микробными метаболитами, кислотами и ферментами. К числу важнейших биодеструкторов относят микроорганизмы (бактерии, плесневые грибы и водоросли), а также мхи, лишайники и др. Наиболее агрессивными биодеструкторами строительных материалов являются микромицеты родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Trichoderma*, на долю которых приходится более 40% всех биоповреждений в строительной отрасли. Заселяя поверхности минеральных строительных материалов, они обуславливают не только их разрушение, но и подвергают опасности здоровье людей, вызывая заболевания верхних дыхательных путей и аллергические реакции [1–3].

Целью настоящей работы стала оценка уровня биоповреждений модельных образцов бетонных конструкций по результатам анализа метаболической активности микромицетов и экспериментального тестирования прочностных характеристик бетона.

В работе использовали микромицеты *Aspergillus sp.* и *Penicillium sp.*, выделенные с внутренней поверхности стен старых зданий г. Казани.

В качестве модельных образцов использовали высокопрочные песчаные бетоны (ВПБ), которые изготавливались в виде балок размером 160×40×40 мм на основе портландцемента марки ПЦ 400 Д0-П и ПЦ 500 Д0-Н, а так же образцы бетонов М 600, М 800 и М 1000.

При оценке роста микромицетов на поверхности твердой питательной среды было показано, что максимальной средней радиальной скоростью роста обладал *Aspergillus sp.*, что в 2.6 раз превышало среднюю радиальную скорость *Penicillium sp.* Это дало нам основания отнести *Aspergillus sp.* к г — стратегам, способным к быстрому заселению поверхностей (рис. 1а).

Анализ органических кислот определяли с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Flexar (PerkinElmer, США). Оба изолята оказались способны синтезировать щавелевую, лимонную, яблочную и молочную кислоты (Рис. 1 Б). Причем *Aspergillus sp.* синтезировал в 2.6 раза больше лимонной кислоты по сравнению с *Penicillium sp.* Оба микромицета обладали протеолитической активностью (Рис. 1 В). При исследовании культуральной жидкости и органических экстрактов воздушного мицелия и спор микромицетов в тесте Эймса было показано, что число индуцируемых

Рис. 1 — Метаболическая активность микромицетов: а — средняя радиальная скорость роста; б — синтез органических кислот; в — протеолитическая активность

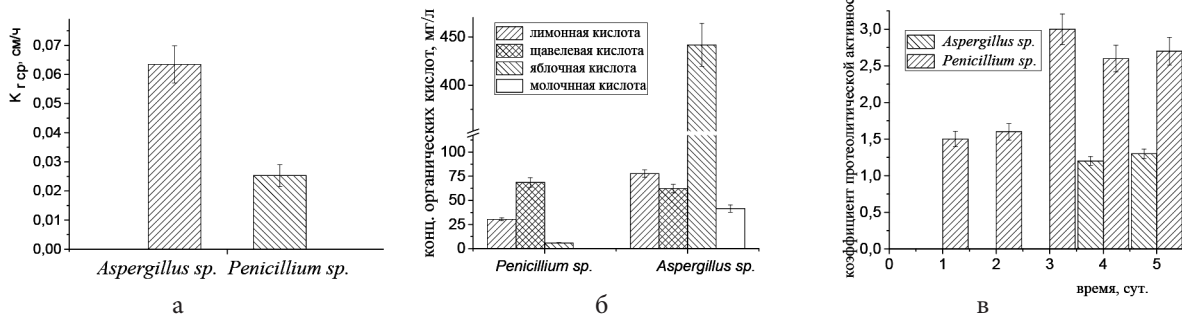
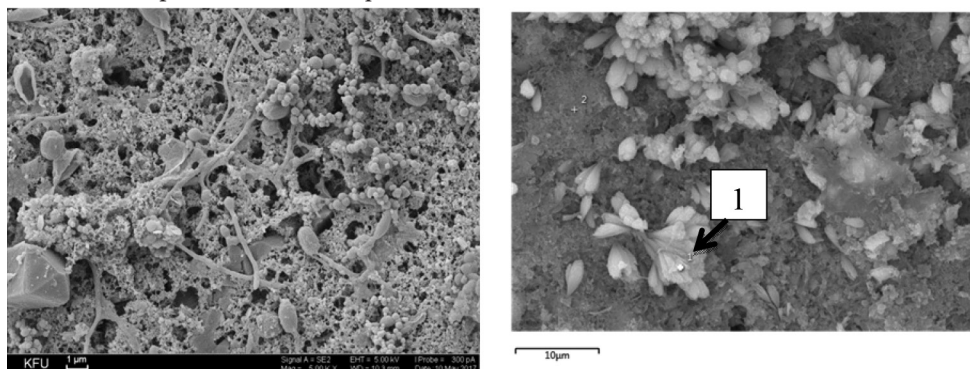


Рис. 2 — Визуальные характеристики биокоррозии: а — прорастание спор *Penicillium sp.* на поверхности образцов песчаного бетона (увеличение x5000); б — образование кальцификатов (1)



His+ревертантов не превышало спонтанный фон мутирования. Следовательно, данные микромицеты не должны оказывать прямого негативного влияния на человека.

Визуальные характеристики биокоррозии были получены с использованием сканирующей электронной микроскопии. Было отмечено прорастание микромицетов вглубь бетонных конструкций, а так же зафиксировано уменьшение в 1.5 ± 0.1 раза концентрации ионов кальция, что свидетельствовало об элиминации из структуры бетона ионов Ca^{2+} . Известно, что кальций, связываясь с лимонной кислотой, образует малорастворимый цитрат кальция $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$, который выпадает в осадок в виде кальцификатов [4], что и было зафиксировано на поверхности образцов (рис. 2).

Анализа химической стойкости образцов высокопрочных песчаных бетонов, который отражает изменение прочностных характеристик после испытания их на прочность при изгибе и сжатии до и после годовой экспозиции с микромицетами показал незначительное снижение (не более чем на 13%), что свидетельствовало об отсутствии достоверных изменений прочностных характеристик.

Таким образом, несмотря на то, что нами не было отмечено значительного снижения прочностных характеристик бетон, синтез лимонной кислоты, уменьшение

концентрации ионов кальция и образование кальцификатов на поверхности бетона, а также прорастание спор вглубь бетонных конструкций, позволяет нам предположить, что более длительный контакт бетона с микромицетами может привести к более серьезным повреждениям высокопрочного песчаного бетона.

Список литературы

1. Антонов В.Б. Экологические причины микозов и микогенной аллергии у городских жителей [Текст] / В.Б. Антонов // Проблемы мед. микологии. — 2002. — Т. 4, № 2. — С. 64.
2. Строганов В.Ф. Введение в биоповреждение строительных материалов: монография [Текст] / В.Ф. Строганов, Е.В. Сагадеев // Казань: Изд-во Казанский государственный архитектурный — строительный университет. — 2014. — С. 200.
3. Ilinskaya O. Biocorrosion of materials and sick building syndrome [Text] / O. Ilinskaya, A. Bayazitova, G. Yakovleva // Microbiology Australia. — 2018. — V 39, №3, P. 129–132.
4. Строганов В.Ф. Комплексное исследование процессов биоповреждения минеральных строительных материалов [Текст] / В.Ф. Строганов, Е.В. Сагадеев // Строительные материалы. — 2011. — Т. 5. — С. 5–8.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ С ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕЕ

Жгун А.А.¹, Потапов М.П.², Авданина Д.А.¹, Климкина К.М.³, Веселовский В.А.³, Любавская Е.А.⁴, Троян Е.В.⁴, Федоров Д.Е.³, Шитов М.В.⁴.

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биоинженерии, Москва

²Московский Политехнический университет

³ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

⁴Государственная Третьяковская галерея, 119017, Москва

Микроскопические грибы способны наносить значительный урон произведениям живописи, в частности, масляной живописи на холсте или темперной живописи [1–4]. В нашей работе отобрали микробиологические пробы с экспонатов темперной живописи 15–16 вв.: икона «Церковь Воинствующая», бюст Геор-

гия Победоносца, икона «Св. Великомученик Димитрий Солунский», находящихся в 61-м зале Живописи Древней Руси основного исторического здания Государственной Третьяковской галереи (Лаврушинский пер., 10, Москва). На самих произведениях темперной живописи отсутствовали видимые следы микробио-

логического роста. Однако это экспонаты находились в зале, где в течение нескольких лет мониторинг определял значительное превышение фонового уровня для микробиоты музеев. Через неделю после отбора проб, экспонаты эвакуировали, вскрыли облицовочные стены и обнаружили видимые глазом значительные очаги микробиологического поражения. Мы отобрали микробиологические пробы из очагов этих биопоражений, расположенных на внутренних коммуникациях, балках, перекрытиях, кабель-каналах, трещинах в потолках. Все образцы отобрали с разрешения Главного хранителя музейных ценностей Государственной Третьяковской галереи. Аликвоты отображенных проб использовали для инокуляции на стандартные микробиологические среды; для 106 отображенных проб получили 119 культур (62 культуры на среде CD и 57 культур на среде LB) [5]. Исходные пробы и полученные культуры предварительно охарактеризовали методами световой и электронной микроскопии, доминантные грибные виды генотипировали после секвенирования по Сенгеру ITS1, 5.8S и ITS2 районов рДНК [5,6]. Для определения потенциальной опасности изолированных культур для исследуемых экспонатов инокулировали 10 полученных культур с доминантными грибными видами на 20 макетов, представляющих отдельные лакокрасочные материалы, используемые в темперной живописи. Методами ИК-Фурье и электронной спектроскопии показали эффективную биодеструкцию изучаемыми микробиомами большинства материалов (клеи, темперы с красочными пигментами, пластификаторы, лаки) [5,6].

Для характеристики грибных микробиомов в исходных пробах и соответствующих им культурам на среде CD провели метагеномное секвенирование ITS2 районов рДНК на платформе MISEq Illumina (Номер доступа BioProject: PRJNA606688, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA606688>). После биоинформационной обработки данных получили свыше 300 уникальных последовательностей, соответствующих культивируемым и некультивируемым видам. Доминантными представителями явились представители аскомицетов: сордариомицеты (*Simplicillium* и *Microascus*), дотидиомицеты (*Cladosporium* и *Alternaria*) и зурциомицеты (*Aspergillus*). Полученные данные позволили всесторонне охарактеризовать разнообразие микроскопических грибов, присутствующее как на самих экспонатах, так и в непосредственной близости от них (на различных предметах и коммуникациях залов). В наибольшей

степени заражению подверглась икона «Св. Великомученик Димитрий Солунский»; в наименьшей степени — темперная поверхность иконы «Церковь Воинствующая». Отдельно провели сравнительный анализ перевиваемых 10-ти культур, используемых для инокуляции на лакокрасочные материалы.

Полученные данные важны для последующей совместной работы с отделом научной реставрации темперной живописи Государственной Третьяковской галереи.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-04349

Список литературы

1. López-Miras M, Piñar G, Romero-Noguera J, Bolívar-Galiano FC, Ettenauer J, Sterflinger K, et al. Microbial communities adhering to the obverse and reverse sides of an oil painting on canvas: identification and evaluation of their biodegradative potential. *Aerobiologia (Bologna)*. 2013;29: 301–314. doi:10.1007/s104530129281-z
2. Sterflinger K, Piñar G. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art--tilting at windmills? *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;97: 9637–46. doi:10.1007/s0025301352831
3. Poyatos F, Morales F, Nicholson AW, Giordano A. Physiology of biodeterioration on canvas paintings. *J Cell Physiol*. 2018;233: 2741–2751. doi:10.1002/jcp.26088
4. Rosado T, Silva M, Dias L, Candeias A, Gil M, Mirão J, et al. Microorganisms and the integrated conservation-intervention process of the renaissance mural paintings from Casas Pintadas in Évora — Know to act, act to preserve. *J King Saud Univ — Sci*. 2017;29: 478–486. doi:10.1016/j.jksus.2017.09.001
5. Zhgun AA, Avdanina DA, Simonenko NP, Volkov IA, Ivanov VV. Detection of biodeterioration on materials used in tempera painting. *Znan misel J*. 2018; 1: 7–15.
6. Zhgun AA, Avdanina DA, Potapov MP, Stepanov MG, Shitov M V. Genotyping of microorganisms capable of damaging materials used in tempera painting. *Znan misel J*. 2018; 20: 6–13.
7. Zhgun AA, Potapov MP, Avdanina DA. Optimization of preparation stages for metagenomic sequencing of samples taken from XVI century tempera painting in State Tretyakov Gallery. *Colloquium-journal*. 2019;17 (41): 4–12.

ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ ФУНГИЦИДОВ НА ОСНОВЕ АЛКИЛНУКЛЕОЗИДОВ
ДЛЯ ЗАЩИТЫ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ТЕМПЕРНОЙ ЖИВОПИСИ 15–16 вв.
ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ТРЕТЬЯКОВСКОЙ ГАЛЕРЕИ.

*Жгун А.А.¹, Нураева Г.К.¹, Авданова Д.А.¹, Негря С.Д., Шевченко О.В.², Ясько М.В.²,
Троян Е.В.³, Александрова Л.А.², Любавская Е.А.³, Шитов М.В.³*

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биоинженерии, Москва

²Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

³Государственная Третьяковская галерея, Москва

Микроорганизмы способны к эффективному росту на самых разнообразных субстратах, в том числе, на материалах, используемых при создании произведений искусства. В результате, биодеструкция является важнейшим фактором повреждения объектов культурного наследия. Ранее мы продемонстрировали, что микроорганизмы, изолированные с произведений темперной живописи в Государственной Третьяковской галерее, способны в оптимизированных условиях разлагать лакокрасочные материалы [1]. Для этого сделали набор макетов с отдельно нанесенными материалами, используемыми в темперной живописи (темперы, пластификаторы, лаки, клеи); инокулировали на них аликвоты изолированных культур. В результате наблюдали эффективную биодеструкцию большинства используемых материалов, причем наилучшей средой для грибного роста явились варианты самих темперных красок [1]. Отбор проб происходил с темперных поверхностей экспонатов 15–16 вв.: икона «Церковь Воинствующая», бюст Георгия Победоносца, икона «Св. Великомученик Димитрий Солунский», находившихся в 61-ом зале Живописи Древней Руси, основного исторического здания Государственной Третьяковской галереи (Лаврушинский пер., 10, Москва). Все пробы отобраны с разрешения главного хранителя музейных ценностей Государственной Третьяковской галереи. При этом на самих экспонатах не было видимых следов микробиологического поражения. Однако эти произведения искусства находились в зале 61, где на протяжении нескольких лет мониторинг определял значительное превышение фонового уровня для микробиоты музеев; после демонтажа демонстрационных щитов обнаружили значительные видимые глазом очаги микробиологического поражения. В настоящее время зал 61 закрыт на капитальный ремонт. Тот факт, что следовые количества микроорганизмов-деструкторов присутствовали на поверхности экспонатов темперной живописи, находившихся в этом зале, относит их к группе риска. Существует вероятность, что при попадании в условия, отличающиеся строго регламентированных условий музейного хранения, покоящаяся микрофлора пробудится. Поэтому актуальной задачей является поиск эффективных антисептиков, способных подавить рост микроорганизмов и не повредить при этом сам обрабатываемый объект. Применяемые в настоящее время традиционные антисептики имеют значительные ограничения [2]. Наиболее важным фактором, приводящим к повреждению самого произведения искусства при обработке антисептиком, является его химический реакционная способность [3].

В нашей работе провели скрининг впервые синтезированных алкилнуклеозидов, представляющих N4-модифицированные производные 2'-дезоксцитидина, против культур мицелиальных грибов, отобранных в

залах Третьяковской галереи и способных повреждать материалы темперной живописи. Нуклеотиды и нуклеозиды, являясь основными структурными единицами ДНК и РНК, участвуют в биосинтезе белков, выступают как кофакторы многих биохимических циклов, регулируют активности ферментов метаболизма нуклеотидов. В связи с этим даже небольшие модификации нуклеинового основания или сахарного фрагмента нуклеозида могут оказывать существенное влияние на узнавание и ингибирование соответствующих ферментов, и, таким образом, на его активность как антипатогена. Противогрибковые нуклеозидные антибиотики представляют собой важное семейство натуральных продуктов и их аналоги с характерными структурными особенностями [4,5]. В этом ряду созданные нами N4-модифицированные производные 2'-дезоксцитидина ранее не изучались.

На первом этапе изучили биологическую активность созданных соединений, (добавленных в агаризованную среду Чапека-Докса в диапазоне концентраций от 0,1 до 2,5 мМ) против мицелиальных грибов-деструкторов: *Aspergillus versicolor* STG–25G (SRX7729174; MK260015.1), *Ulocladium chartarum* STG–36 (SRX7729176), *Cladosporium halotolerans* STG–52B (SRX7729178; MK258720.1), *Aspergillus creber* STG–57 (SRX7729180; MK266993.1), *Aspergillus versicolor* STG–86 (SRX7729182; MK262781.1), *Aspergillus sp* STG–93W (SRX7729186), *Cladosporium parahalotolerans* STG–93B (SRX7729188; MK262909.1), *Microascus paisii* STG–103 (SRX7729192) и *Aspergillus tomentosus* STG–106 (SRX7729194; MK268342.1). Также исследовали воздействие на изучаемые грибы соединением близкой структуры — азотимицина, являющегося противовирусным средством. Некоторые из синтезированных соединений продемонстрировали антимикозную активность широкого спектра действия, подавляя рост всех тестируемых грибов. Также выявлены вещества, проявляющие повышенную активность в отношении определенных классов аскомицетов: сордариомицетов (*Simplicillium* и *Microascus*), дотидиомицетов (*Cladosporium* и *Ulocladium*) или эурициомицетов (*Aspergillus*). Антимикозная активность близкородственного соединения противовирусной природы, азотимицина, не была выявлена.

В наших экспериментах впервые продемонстрирована антимикозная активность для ряда новых N4-модифицированных производных 2'-дезоксцитидина. На следующем этапе работы планируется создание набора макетов с материалами, используемыми в темперной живописи, к которым будут добавлены изучаемые алкилнуклеозиды в действующих концентрациях. Это позволит изучить антисептические свойства веществ в составе материалов и исследовать сохранность самих материалов при внесении добавок.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 17-29-04349 и РФФИ № 20-04-00094.

Список литературы

1. Zhgun AA, Avdanina DA, Simonenko NP, Volkov IA, Ivanov VV. Detection of biodeterioration on materials used in tempera painting. *Znan misel J.* 2018;1: 7–15.
 2. Unger A, Schniewind AP, Unger W. Conservation of Wood Artifacts : a Handbook. Springer Berlin Heidelberg; 2001.
 3. Unger A, Schniewind AP, Unger W. Fumigants. 2001. pp. 275–325. doi:10.1007/978-3-662-06398-9_9.
 4. Serpi M, Ferrari V, Pertusati F. Nucleoside Derived Antibiotics to Fight Microbial Drug Resistance: New Utilities for an Established Class of Drugs? *J Med Chem.* 2016;59: 10343–10382. doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00325.
 5. Niu G, Zheng J, Tan H. Biosynthesis and combinatorial biosynthesis of antifungal nucleoside antibiotics. *Sci China Life Sci.* 2017;60: 939–947. doi:10.1007/s11427-017-9116-0.
-

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ
Current Mycology in Russia

Том 8

Выпуск 6.

Грибные биотехнологии

Глава 12.

Грибные биотехнологии

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.12

Глава 13.

**Культивируемые съедобные
и лекарственные грибы**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.13

Volume 8

Issue 6.

Biotechnology from fungi

Chapter 12.

Fungal biotechnology

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.12

Глава 13.

Cultivable, edible and medicinal fungi

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.13

Содержание выпуска 6

Глава 12. Грибные биотехнологии

УЧАСТИЕ ЭКЗОХИТОЗАНАЗЫ И N-АЦЕТИЛ-В-D-ГЛЮКОЗАМИНИДАЗЫ В ДЕГРАДАЦИИ ХИТИНА ШТАММОМ <i>PENICILLIUM SP. IB-37-2A</i> Актуганов Г.Э., Кузьмина Л.Ю., Сафина В.Р., Галимзянова Н.Ф.	395
ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> Борисенко О.А.	397
МИКРООРГАНИЗМЫ-ДЕСТРУКТОРЫ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ УТИЛИЗАЦИИ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ Чудинова Е.М., Санджиева Д.А., Дедов А.Г., Еланский А.С., Еланский С.Н.	398
НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ — ПРОДУЦЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ГИДРАЛАЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОМАТЕРИАЛОВ Чилочи А.А., Тюрина Ж.П., Бивол Ч.М., Клапко С.Ф., Дворнина Е.Г., Лаблюк С.В.	399
МЕТАБОЛИТЫ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА <i>GANODERMA LUCIDUM (CURTIS) P. KARST</i> , ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ НАРУЖНЫХ СРЕДСТВ, УЛУЧШАЮЩИХ ТРОФИКУ И РЕГЕНЕРАЦИЮ ТКАНЕЙ Гольшкин А.В., Альмяшева Н.Р., Ярина М.С., Усов А.И., Иванова Е.С., Замкова М.А., Краснопольская Л.М.	401
ПОИСК МИКРОМИЦЕТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ ПЕРЕРАБОТКИ КЕРАТИНСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ Гордонова И.К., Никитина З.К.	402
МИКОЛОГИЧЕСКАЯ ПАТЧ-КЛАМП-ОСМОМЕТРИЯ И ПАТЧ-КЛАМП-ЗИМОГРАФИЯ: ОТ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ДО ПАТЧ-КЛАМП-ТАКСОНОМИИ ПО БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИМ И МЕЗОКИНЕТИЧЕСКИМ ХЕМИОСМОТИЧЕСКИМ И ЭНЗИМОЛОГИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ Градов О.В.	404
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛИЧИНОК БОЛЬШОГО МУЧНОГО ХРУЩАКА <i>TENEBRIO MOLITOR</i> К <i>METARHIZIUM ANISOPLIAE</i> Гулик Е.С., Чикин Ю.А., Харлова А.А.	406
ПРИРОДНЫЕ ШТАММЫ МИКРОМИЦЕТОВ ПРОДУЦЕНТЫ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ Холмурадова Н.К., Пулатова О.М., Алимова Б.Х., Махсумханов А.А., Зухритдинова Н.Ю., Ташбаев Ш.А., Сафарова И.В.	408
ГРИБНЫЕ ИНОКУЛЯТЫ ПРИ КОМПОСТИРОВАНИИ ОТХОДОВ В БИОУДОБРЕНИЯ Кураков А.В., Тихонов В.В., Биланенко Е.Н., Бондаренко С.А., Садыкова В.С.	409
ОКИСЛЕНИЕ ФЕНОЛА ДРОЖЖАМИ <i>CANDIDA SOJAE</i> Кувичкина Т.Н., А.Г. Быков, Е.Н. Капарулина, Н.В. Доронина, А.А. Макаренко, А.Н. Решетиллов	410
БИФИДОБАКТЕРИИ И ЛАКТОБАЦИЛЛЫ — ИСТОЧНИКИ АНТИМИКОТИКОВ РАСПОЗНАЮЩЕЙ ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ СЕТИ Лахтин М.В., Лахтин В.М.	412
ПЕРСПЕКТИВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>BEAUVERIA BASSIANA (BALS. — CRIV.) VUILL.</i> В УСЛОВИЯХ БИОРЕАКТОРА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ Литовка Ю.А., Павлов И.Н., Хромогин П.В., Эназаров Р.Х., Петренко С.М.	413
УСТОЙЧИВЫЕ К БЕЛОМУ ФОСФОРУ ГРИБЫ А.З. Миндубаев, А.Д. Волошина, Э.В. Бабынин, С.Т. Минзанова, Е.К. Бадеева, Й.А. Акосах	415
АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ БИОПРЕПАРАТА «РЕМЕДОЙЛ» НА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫЕ ПОЧВЫ Н.Н. Минина	417
УЛУЧШЕНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭНДОГЮКАНАЗЫ 2 ГРИБА <i>PENICILLIUM VERRUCULOSUM</i> С ПОМОЩЬЮ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА Немашкалов В.А., Беккаревич А.О., Бубнова Т.В., Матыс В.Ю., Рожкова А.М., Синицын А.П.	419
ИЗМЕНЕНИЕ БИОСИНТЕЗА ПОЛИАМИНОВ У ВЫСОКОАКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С, ШТАММА <i>ACREMONIUM CHRYSOGENUM</i> ВКМ F-4081D Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенко Л.В.	420
ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОКСИКАРБОНОВОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ШУЛЬТЫ Борисенко О.А.	421

ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫЕ ГРИБЫ КАК ПРОДУЦЕНТЫ НОВЫХ ПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ, ПРЕОДОЛЕВАЮЩИХ АНТИМИКРОБНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ: ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ПОИСКУ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ Садыкова В.С., Куварина А.Е., Гаврюшина И.А., Георгиева М.Л., Кулько А.Б., Рогожин Е.А.	422
СИНТЕЗ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ГЛИКОЗИЛ-ГИДРОЛАЗ ХИТОЗАН-ДЕГРАДИРУЮЩИМ ШТАММОМ <i>PENICILLIUM</i> SP. IV-37-2A И ЕГО ПОТЕНЦИАЛ В БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО И ХИТИН-СОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ Сафина В.Р., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Мелентьев А.И., Актуганов Г.Э.	423
КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ФИТО-ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЯХ РАЗНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ РЕГИОНОВ НА ПРИМЕРЕ ФРАНЦИИ И ТАИЛАНДА Сайнчук А.Д., Александрова А.В., Харитонов С.Л., Щеголькова Н.М.	425
ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДУКЦИИ ВИНКА-АЛКАЛОИДОВ В ЭНДОФИТНЫХ ГРИБАХ РАСТЕНИЙ РОДА <i>VINCA</i> Шахмуров Н.А., Насметова С.М., Едгорова Н.Т., Гулямова Т.Г.	427
СЕЛЕКЦИЯ КАРОТИНОИДНЫХ ДРОЖЖЕЙ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКОВО-ВИТАМИННЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ ДЛЯ КОРМОПРОИЗВОДСТВА Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Фурсова Н.А., Волкова Г.С., Сербя Е.М.	428
ПРЕВРАЩЕНИЕ ОТХОДОВ ТЕХНОГЕННОЙ СФЕРЫ И СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В ПОЛЕЗНЫЕ ПРОДУКТЫ С ПОМОЩЬЮ ГРИБОВ Титова Ю.А.	433
ГРИБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АКУСТИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ Цивилева О.М., Панкратов А.Н., Кузнецова И.Е., Зайцев Б.Д., Шихабудинов А.М.	436
СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ БЛАГОРОДНЫХ МЕТАЛЛОВ ОПРЕДЕЛЕННОГО РАЗМЕРА С ПОМОЩЬЮ «МИКОГЕННОГО СИНТЕЗА» Ветчинкина Е.П., Никитина В.Е.	438
БИОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ Зайнитдинова Л.И., Бахтиерова М.С., Куканова С.И.	440
АЗАФИЛОНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГРИБА <i>ASPERGILLUS CAVERNICOLA</i> Желифонова В.П., Антипова Т.В., Баскунов Б.П., Козловский А.Г.	441

Глава 13. Культивируемые съедобные и лекарственные грибы

ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕКЦИИ ШИИ-ТАКЕ (<i>LENTINULA EDODES</i>) ПРИ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ Богдаев А.Г., Ткачева М.Н.	443
СКРИНИНГ КУЛЬТУР БАЗИДИАЛЬНЫХ КСИЛОТРОФОВ — ПРОДУЦЕНТОВ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ Демченко С.И., Загнитко Ю.П., Чайка А.В.	443
РОЛЬ РОССИЙСКИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ В ИЗУЧЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБНОГО СЫРЬЯ — ЧАГИ Денисова Н.П., Баландайкин М.Э., Белова Н.В., Бондарцева М.А., Змитрович И.В., Переведенцева Л.Г., Перелыгин В.В., Яковлев Г.П.	445
ПРЕПАРАТ GIL-МУКО НА ОСНОВЕ БИОМАССЫ <i>LENTINUS EDODES</i> CNMN-FB-01 Дворнина Е.Г.	447
ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ДРОЖЖЕЙ <i>HANSENULA POLYMORPHA</i> Эльдаров М., Шеломов М.Д., Л.Ю. Вэньсюэ, Авданина Д.А., Жгун А.А., Чубарь Т.А., Атрощенко Д.Л., Тишков В.И.	449
ОСОБЕННОСТИ РОСТА И РАЗВИТИЯ КУЛЬТИВИРУЕМОГО ШАМПИНЬОНА (<i>AGARICUS BISPORUS</i> (<i>J.E. LANGE</i>) <i>IMBACH</i>) ПРИ ИЗМЕНЕНИИ БАЛАНСА ИСТОЧНИКОВ ПИТАНИЯ Комиссаров Н.С., Дьяков М.Ю., Гарибова Л.В.	451
ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ТВЕРДЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА РОСТ МИЦЕЛИЯ ДОЖДЕВИКА ГИГАНТСКОГО Лавлинский А.В., Гамаюнова М.А.	453
ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ НОВОУСМАНСКОГО РАЙОНА ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ Мелькумов Г.М., Колесникова Т.Е.	454
СОХРАНЕНИЕ РЕДКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО МАКРОМИЦЕТА <i>SPARASSIS CRISPA</i> В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР ШЛЯПОЧНЫХ ГРИБОВ <i>IBK</i> Михайлова О.Б.	456

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ <i>PHALLUS IMPUDICUS</i> Разин А.Н., Филиппова И.А., Волков М.Ю., Юшкевич Т.В.	458
ВЛИЯНИЕ ГИББЕРЕЛЛИНОВОЙ И ИНДОЛИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТ НА РОСТ <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> И <i>PLEUROTUS ERYNGII</i> В КУЛЬТУРЕ Савенко А.В., Ширшенко С.Ю., Бойко О.А., Круподерова Т.А., Барштейн В.Ю.	459
ТРОПИЧЕСКИЕ ВИДЫ РОДА <i>GANODERMA</i> : БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ Шнырева А.В., Эспиноза В., Тригос А.	461
ПРОИЗВОДСТВО ШАМПИНЬОНА ПУТЕМ МУЛЬТИБИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ БИКУЛЬТУРЫ ШИИТАКЕ И ВЕШЕНКИ Титова Ю.А.	462
ИССЛЕДОВАНИЕ СИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ШТАММОМ ГРИБА <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> BDU-12 Зейналова Л.А., Керимова Е.Р., Сулейманова Г.Ч., Гасанова С.А.	464
ПЛЕНКИ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ <i>GANODERMA LUCIDUM</i> ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ СЕНСОРНЫХ ПОКРЫТИЙ АКУСТОЭЛЕКТРОННЫХ ДАТЧИКОВ КОНТРОЛЯ ВОЗДУХА Зиангирова М.Ю., Гольшкин А.В., Смирнов А.В., Асафьев Н.О., Краснопольская Л.М., Колесов В.В., Кузнецова И.Е.	465
ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ РОСТА <i>PLEUROTUS NEBRODENSIS</i> В КУЛЬТУРЕ Зленко Д.С., Бойко О.А., Круподерова Т.А., Барштейн В.Ю., Кваско А.Ю.	466

Глава 12. Грибные биотехнологии

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.12

УЧАСТИЕ ЭКЗОХИТОЗАНАЗЫ И N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНИДАЗЫ В ДЕГРАДАЦИИ ХИТИНА ШТАММОМ *PENICILLIUM SP. IB-37-2A*

Актуганов Г.Э., Кузьмина Л.Ю., Сафина В.Р., Галимзянова Н.Ф.
Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН

Хитин — широко распространенный в природе полисахарид, состоящий преимущественно из остатков N-ацетил-D-глюкозамина, соединенных 1,4-β-гликозидными связями, представляет собой ценный исходный материал для получения хитозана и других материалов и соединений, используемых в различных областях медицины и фармакологии, пищевой промышленности, сельского хозяйства и др. [1]. В качестве основных промышленных источников хитина в настоящее время следует рассматривать панцирь-содержащее сырье отходов переработки морских ракообразных, гладиус промысловых групп кальмаров, биомассу некоторых одомашненных насекомых, а также мицелий и плодовые тела различных видов грибов, используемых в биотехнологии и пищевой индустрии. Ферментативная конверсия и прямая микробиологическая трансформация хитин-содержащих отходов в микробный белок и биомассу, биофунгициды, биоактивные соединения и биотопливо являются одним из эффективных инструментов в решении проблемы загрязнения окружающей среды и ресурсосбережения [2]. Ферментативная деградация хитина осуществляется различными группами гидролаз и оксидоредуктаз — эндо- (КФ 3.2.1.14) и экзохитиназ (КФ 3.2.1.200 и 3.2.1.201), хито-

декстриназ (3.2.1.202) и N-ацетилгексозаминаз (КФ 3.2.1.52). В настоящее время известно о трех путях естественной трансформации хитина у микроорганизмов (<https://biocyc.org/META/NEW-IMAGE?object=Chitin-Degradation>), в которые вовлечены также хитин-деацетилазы (К 3.5.1.41), а также эндо- (КФ 3.2.1.132) и экзохитозаназы (КФ 3.2.1.165). В то же время, прямое участие микробных хитозаназ в биодеструкции хитина остается неясным.

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение действия на крабовый хитин очищенных препаратов экзохитозаназы и N-ацетилглюкозаминидазы хитозан-деградирующего штамма *Penicillium sp. IB-37-2A*. В культуральной среде данного гриба обнаружилось, по меньшей мере, восемь изоформ хитозаназ, 90% активности которых приходилось на белок с молекулярной массой 41 кДа и ИЭТ 5.1. Этот фермент был отнесен к группе экзо-1,4-β-глюкозаминидаз, осуществляющих последовательное отщепление мономерного остатка с нередуцирующего конца молекулы хитозана [3]. Среди ферментов *Penicillium sp. IB-37-2A*, деградирующих олигомеры хитина, наибольшую активность показывала N-ацетилглюкозаминидаза с массой 56 кДа. Оба фермента были очищены методами ультра-

Рисунок 1 — Динамика радиального роста штамма *Penicillium sp. IB-37-2A* на картофельно-глюкозном агаре (а), агаре Чапека (б), средах с 0,5% коллоидного хитина (с) и 0,5% хитозана (д) (рН 6, 28 °С)

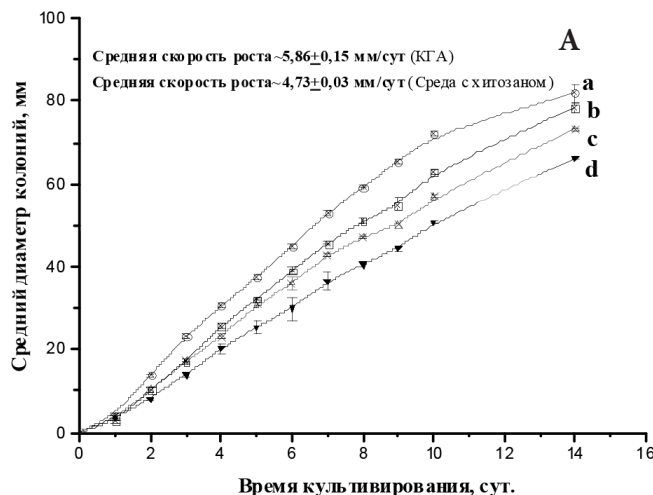


Рисунок 2 — Динамика гидролиза коллоидного хитина (10 мг/мл) очищенной N-ацетилглюкозаминидазой (а) (0,20 ед на 1 мг субстрата) и экзохитозаназой (б) (0,02 ед/мг) и *Penicillium sp. IB-37-2A*, а также их комплексом (с)

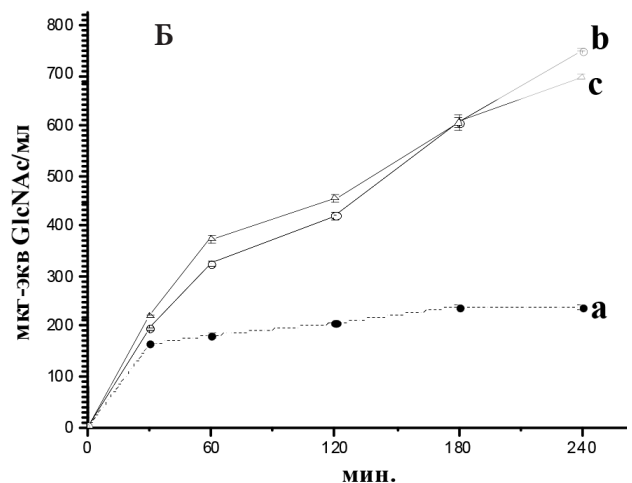
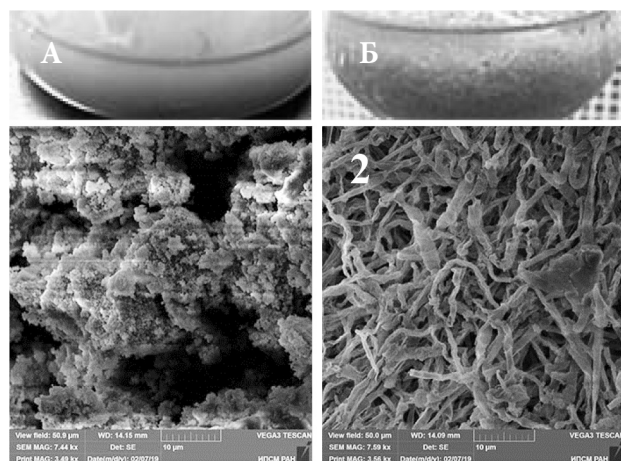


Рис. 3. Сканирующая электронная микроскопия плотного осадка питательной среды с 1% коллоидного хитина перед засевом *Penicillium* sp. IB-37-2A (А, 1) и на 7-е сутки (Б, 2) культивирования гриба (28 °С, 160 об⁻¹).



филтрации, аффинной сорбции и гидрофобной хроматографии [3].

Первоначальная сравнительная оценка конверсии хитина и хитозана штаммом *Penicillium* sp. IB-37-2A показывала наиболее интенсивный глубинный рост гриба на среде с хитозаном при pH 4, сопровождавшийся быстрой утилизацией субстрата (50% — за 48 ч, 100% — после 96 ч). В условиях поверхностного развития на агаре при pH=6, напротив, отмечалась наиболее низкая динамика развития гриба в присутствии хитозана по сравнению с хитином и другими субстратами (рис. 1). Однако, при культивировании в среде с коллоидным хитином исследуемый штамм показывал такую же невысокую хитиназную активность в культуральной среде (0,1 ед/мл), как и на хитозан-содержащей среде, при том же уровне хитозаназной (0,9–1,2 ед/мл) и N-ацетилглюкозаминидазной (8–10 тыс. ед/мл) активностей. Данный факт позволил нам предположить, что оба этих фермента играют основную роль в деградации хитина грибом *Penicillium* sp. IB-37-2A. Действительно, при анализе субстратной специфичности высокоочищенных ферментов было обнаружено, что как экзохитозаназа, так и N-ацетилглюкозаминидаза способны гидролизовать коллоидный хитин, однако с различной скоростью (рис. 2). При 10-кратно меньшей концентрации экзохитозаназа *Penicillium* sp. IB-37-2A в три раза быстрее деградировала субстрат по сравнению N-ацетилглюкозаминидазой. При совместном действии обоих ферментов наблюдалось не критичное повышение скорости гидролиза хитина в первый час реакции, что указывает на возможность их совместного действия (рис. 2).

Таким образом, экзохитозаназа показывала наибольшую неспецифическую активность при гидролизе хитина внеклеточным ферментным комплексом *Penicillium* sp. IB-37-2A. Слабое действие N-ацетилглюкозаминидазы на хитин, вероятно, обусловлено большей специфичностью этого фермента в отношении диацетилхитобиозы и других низших хитоолигомеров, хотя некоторые из ферментов этой группы способны эффективно расщеплять хитин по экзо-механизму, отщепляя с нередуцирующего конца молекулу моно-

мера [4]. Однако, в целом степень деградации хитина N-ацетилглюкозаминидазой *Penicillium* sp. IB-37-2A составляла не более 2%, а при совместном действии обоих ферментов — около 7%. Эти данные не совпадали с картиной полного исчерпания данного субстрата в жидкой культуре *Penicillium* sp. IB-37-2A, отмечаемой при электронной микроскопии остаточного осадка при завершении культивирования (рис. 3).

Эти данные свидетельствуют, что полная деградация хитина штаммом *Penicillium* sp. IB-37-2A может осуществляться не под действием внеклеточных гидролаз, а только при непосредственном контакте с гифами гриба. Этот факт подтверждается возможностью присутствия у некоторых грибов видов *Aspergillus* и *Coccidioides* хитиназ, ассоциированных с клеточной стенкой, но способных осуществлять деструкцию экзогенного субстрата [5]. У бактериального штамма *Paenibacillus* sp. FPU-7 идентифицирована особая хитиназа ChiW, экспрессируемая и локализованная на поверхности клетки и играющая важную роль в совместной деградации нерастворимого хитина с внеклеточными хитиназами [6].

Полученные результаты показывают, что внеклеточные экзохитозаназа и N-ацетилглюкозаминидаза *Penicillium* sp. IB-37-2A играют вспомогательную роль в гидролизе хитина, способствуя деструкции его аморфизированных участков и глюкозамин-содержащих фрагментов, либо осуществляя гидролиз низших олигомеров, образуемых при действии гидролаз, ассоциированных с поверхностью мицелия гриба.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yadav M., Goswami P., Paritosh K., Kumar M., Pareek N., Vivekanand V. Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials // *Bioresour. Bioprocess.* 2019. V. 6. No. 8. P. 1–20. <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0243-y>
2. Wang S.-L., Liang T.-W., Yen Y.-H. Bioconversion of chitin-containing wastes for the production of enzymes and bioactive materials. Review // *Carbohydr. Polymers.* 2011. V. 84, No. 2. P. 732–742. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.06.0223.
3. Aktuganov G.E., Galimzianova N.F., Gilvanova E.A., Pudova E.A., Kuzmina L.Yu., Melentiev A.I. et al. Purification and characterization of exo- β -1,4-glucosaminidase produced by chitosan-degrading fungus, *Penicillium* sp. IB-37-2A // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019. V. 35, No. 2: 18. P. 1–13. DOI: 10.007/s11274-019-2590-4
4. Sakai K., Narihara M., Kasama Y., Wakayama M., Moriguchi M. Purification and characterization of thermostable beta-N-acetylhexosaminidase of *Bacillus stearothermophilus* CH-4 isolated from chitin-containing compost. // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1994. — V. 60, № 8. — P. 2911–2915.
5. Adams D.J. Fungal cell wall chitinases and glucanases // *Microbiol.* 2004. V. 150. P. 2029–2035. DOI 10.1099/mic.0.26980-0
6. Itoh T., Hibi T., Fujii Y., Sugimoto I., Fujiwara A., Suzuki F. et al. Cooperative degradation of chitin by extracellular and cell surface-expressed chitinases from *Paenibacillus* sp. strain FPU-7 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. V. 79, No. 23. P. 7482–7490. DOI: 10.1128/AEM.02483-13

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Борисенко О.А.

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

С возникновением новых модификаций технологического процесса производства пива, требования к дрожжам, перерабатывающим солодовое пивное сусло, постоянно возрастают. Пивоваренные дрожжи постоянно находятся в среде, богатой необходимыми питательными веществами и изменяют свои свойства достаточно редко, так как полностью приспособлены к режиму и особенностям производства. Тем не менее, на протяжении длительной истории пивоварения в разных странах созданы коллекции пивоваренных дрожжей, отличающихся друг от друга по морфологическим, физиологическим и технологическим свойствам. Из морфологических признаков для характеристики штаммов наиболее важны размеры клеток, их форма и однородность, способность к образованию псевдомицелия. Из физиологических и технологических признаков основными являются бродильная, седиментирующая, флокуляционная способности, особенности флокуляции, потребность в кислороде, скорость и количественная характеристика прироста биомассы, образование основных и побочных продуктов брожения. Данные свойства непрерывно меняются, поэтому оценка дрожжей основывается на большом числе постоянных характеристик. При многократном культивировании дрожжевых клеток в пивоваренном производстве возможно появление мутаций, изменяющих свойства дрожжей. Тщательный и кропотливый поиск новых штаммов дрожжей приводит к выделению форм дрожжей, активность которых повышена по сравнению с исходными штаммами. Выделение мутантов возникших спонтанно можно проводить по ходу всего процесса брожения, однако наиболее устойчивые штаммы должны быть в задаточных дрожжах прошедших несколько циклов брожения, где сохраняются клетки выжившие после резких колебаний температуры.[1] По традиционной технологии, снятые после брожения дрожжи промывают, очищают путем просеивания, хранят под

слоем воды, расходуют по мере надобности. Для замедления процессов, связанных с потреблением запасных питательных веществ, дрожжи хранят при низкой температуре от 0 °С до +1–2 °С. Задаточные дрожжи, если они активные, содержат мало мертвых клеток и не загрязнены посторонней микрофлорой, используются до десяти и более генераций. Под номером генерации понимается генерация не определенной клетки, а номер очередного цикла брожения с использованием тех же дрожжей.[2]

Целью данной работы было обнаружение положительных мутантов исходных рас с повышенными качествами, такими как бродильная активность и флокуляционная способность, в дрожжах прошедших несколько циклов брожения. Исследования проводили с дрожжами *Sacharomyces cerevisiae* расы S, из коллекции ВНИИПБиВП «Чистые культуры дрожжей, применяемые при производстве пива, безалкогольных напитков и вина». Раса S широко используется на современных пивоваренных заводах. Дрожжи среднесбраживающие, клетки овальной формы, длина 7–9 мкм, ширина 4–6 мкм, прирост дрожжевой массы 1:4,4, хорошо флокулируют. Брожение проводили на 11% охмеленном сусле в течение 7 дней, температура брожения 8–10 °С, всего проведено одиннадцать циклов брожения. Пробы дрожжей для исследования отбирали непосредственно перед подачей задаточных дрожжей на брожение. Для изолирования дрожжей и выделения чистой культуры применялся метод предварительного разведения. Полученную дрожжевую суспензию рассевали на чашки Петри с сусло-агаром и выращивали при температуре +28–30 °С в течение 72 часов. По истечении указанного срока выделяли, в зависимости от формы колоний и характера роста на твердой питательной среде, морфологически отличные от расы S колонии дрожжей, и засеивали в пробирки с косым сусло-агаром для дальнейших физиологических исследований. Методика

Таблица — Характеристика производственных показателей вариантов штаммов дрожжей, выделенных из разных генераций расы S

Номер генерации	Число морфологических вариантов	Бродильная активность см ³ CO ₂ за 3 час	Флокуляционная способность
1	1	21,6	1,5
2	1	23,5	1,5
3	1	29,3	1,5
4	1	35,0	1,5
5	1	27,3	1,5
6	1	25,3	1,5
7	17	14,8–51,4	1,4–1,9
8	24	15,5–52,2	1,4–2,0
9	4	24–35,6	1,4–1,6
10	3	38,7–44,6	1,4
11	2	43,5–44,9	1,4
Раса S (контроль)	–	23,4	1,5

выделения чистой культуры дрожжей была единой для всех исследуемых генераций дрожжей. Форму и размер клеток определяли в свежей односуточной культуре дрожжей, выращенной при температуре +28–30 °С на 11% солодовом сусле. Детальный микробиологический анализ проб задаточных дрожжей одиннадцати генераций выявил морфологические отличия у 56 колоний дрожжевых клеток, растущих на сусло-агаре, от колоний культуры *Saccharomyces cerevisiae* расы S. Штаммы дрожжей полученные из этих колоний, проверяли по основным производственным показателям: бродильной активности и способности к флокуляции, контролем служили данные расы S хранящиеся в коллекции ВНИИПБиВП «Чистые культуры дрожжей, применяемые при производстве пива, безалкогольных напитков и вина». Бродильную активность дрожжей определяли объемным методом по Главачеку, флокуляционная способность определялась по методу Хельма.[3] Полученные данные представлены в таблице.

По полученным данным можно судить об интенсивности брожения новых вариантов дрожжей расы S. Из таблицы следует, что наиболее активные штаммы встречались в генерациях 7,8,9,10 и 11. Дрожжи 7 и 8 генераций практически не отличаются друг от друга, и равноценны как по бродильной активности, так и по скорости оседания дрожжей. При сопоставлении изменений бродильной активности и флокуляционной способности у морфологических вариантов дрожжей, видно, что бродильная активность легче подвергается изменениям, и является менее устойчивым признаком, чем флокуляционная способность дрожжевых клеток

изучаемой расы дрожжей. Также из полученных данных видно, что наибольшее число колоний дрожжей, отличных от исходной расы, обнаружено в генерациях 7 и 8, что свидетельствует о генетической неустойчивости клеток в этот период.

Сопоставляя полученные данные для штаммов, выделенных в производстве, с результатом анализа *Sacharomyces cerevisiae* раса S коллекции ВНИИПБиВП «Чистые культуры дрожжей, применяемые при производстве пива, безалкогольных напитков и вина», следует сделать вывод о несомненном повышении бродильной активности пивоваренных дрожжей в процессе многократного использования в процессе брожения. Флокуляционная способность не претерпевает сильных изменений. Полученные данные могут быть использованы для проведения селекционных работ с целью получения, новых высокоактивных штаммов пивоваренных дрожжей.

Список литературы

1. Жукова А.И. технологические требования к микроорганизмам, применяемым в пивоваренном производстве/А.И. Жукова-М.: Пищевая промышленность, 1975. С. 23
2. Прист Ф.Дж. Микробиология пива / Ф.Дж. Прист, Й. Кэмпбелл пер с англ. — СПб: Профессия, 2005. С. 15
3. Жвирблянская А.Ю. Микробиологический контроль производства пива и безалкогольных напитков/ А.Ю. Жвирблянская — М.: Пищевая промышленность, 1979. С. 52–55

МИКРООРГАНИЗМЫ-ДЕСТРУКТОРЫ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ УТИЛИЗАЦИИ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ

Чудинова Е.М.¹, Санджиева Д.А.², Дедов А.Г.², Еланский А.С.¹, Еланский С.Н.^{1,3}

¹Российский университет дружбы народов, Москва

²Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина, Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Смазочно-охлаждающие жидкости (СОЖ) широко применяются в металлообрабатывающей промышленности. Смазочные свойства СОЖ позволяют снизить нагревание, трансформацию и трение, что повышает качество обработки материала, снижает изнашиваемость оборудования. Составы СОЖ несколько различаются. В их основе лежит растительное или минеральное масло (от 3 до 15%), а также присадки, повышающие стабильность СОЖ, снижающие коррозионную активность, биоциды и др. В процессе эксплуатации СОЖ загрязняется как металлическими частицами и посторонними маслами, так и микроорганизмами, в результате чего СОЖ изменяют свои свойства и подлежат утилизации. Из-за присутствия масел, нефтепродуктов, антикоррозионных и биоцидных агентов утилизация СОЖ — сложный и дорогостоящий процесс. Применение микроорганизмов-биодеструкторов для разложения органической составляющей СОЖ позволит снизить затраты на утилизацию СОЖ и уменьшит экологическую нагрузку.

В представленной работе изучены грибы и бактерии, выделенные из СОЖ Российских предприятий. Исследовано 30 образцов СОЖ на масляной и синтетической основе (9 концентратов СОЖ, 20 отработанных СОЖ) и 1 фильтр после очистки СОЖ. Из отработанных СОЖ были выделены и определены морфолого-культуральными и молекулярными методами 12 видов бактерий: *Shewanella putrefaciens*, *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Lysinibacillus* sp., *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus simulans*, *Delftia acidovorans*, *Trabulsilla* sp., *Brevundimonas mediterranea*, 4 вида дрожжевых микроорганизмов: *Fusarium oxysporum*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida parapsilosis*, *Candida metapsilosis* и 6 видов мицелиальных грибов: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Cladosporium* sp., *Penicillium chrysogenum*, *Pleurostoma richardsiae*, *Acremonium* sp.

Чтобы убедиться, что выделенные микроорганизмы действительно могут использовать СОЖ в качестве питательного субстрата, по одному штамму каждого вида те-

стировали на способность к деструкции СОЖ. Все выделенные микроорганизмы хорошо развивались на СОЖах марок Инкам-2 и Мирол. На СОЖах ЧВК-46, ЧВК-85, Инкам1, Фрео рост бактерий был сильно подавлен, преимущественно росли грибы родов *Fusarium* и *Penicillium*.

Поскольку для продления сроков эксплуатации СОЖ для защиты от развития микрофлоры в СОЖи часто добавляют биоциды, была проверена восприимчивость выделенных микроорганизмов к некоторым широко распространенным биоцидным присадкам: Вазин-50, Аргитос, Актисайд MV-14.

Препарат Актисайд MV-14 оказывал биоцидное действие в минимальной рекомендованной концентрации на все тестируемые штаммы бактерий и дрожжевых грибов. По отношению к мицелиальным грибам Актисайд MV-14 обладал сдерживающим эффектом, при этом летальная доза превышала максимальную рекомендованную концентрацию.

Препарат Вазин-50 был эффективен в отношении всех исследуемых штаммов бактерий. Для *Aeromonas hydrophila* и *Proteus* sp. он был губителен при кон-

центрации 0,06%, более низкой, чем рекомендовано производителем. В концентрации, рекомендованной производителем, этот биоцид замедлял рост грибных микроорганизмов.

Препарат Аргитос в концентрации 75 ppm был летен для бактерий и оказывал ингибирующее влияние на рост грибных микроорганизмов.

Как показали наши эксперименты, грибы рода *Fusarium* и *Penicillium* могут расти практически на всех видах исследованных СОЖ. Биоциды, внесенные в состав СОЖ в концентрациях, рекомендованных производителем, не могли служить серьезным препятствием для развития этих грибов.

После дополнительных исследований выделенные нами грибы *Fusarium* и *Penicillium* могут служить основой биопрепаратов для эффективной утилизации смазочно-охлаждающих жидкостей.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 18-29-05066).

НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ — ПРОДУЦЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ГИДРАЛАЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОМАТЕРИАЛОВ

Чилочи А.А., Тюрина Ж.П., Бивол Ч.М., Клапко С.Ф., Дворнина Е.Г., Лаблюк С.В.
Институт микробиологии и биотехнологии, Кишинев, Молдова

Разработаны новые биотехнологии направленного синтеза внеклеточных гидралаз при глубинном культивировании отобранных и запатентованных штаммов микроскопических грибов: *Trichoderma koningii* CNMN FD 15 и *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 — продуцентов внеклеточных протеаз и *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03, *Aspergillus niger* CNMN FD 01 — продуцентов внеклеточных липаз. Культуры хранятся в Национальной коллекции непатогенных микроорганизмов института микробиологии и биотехнологии республики Молдова (1–6).

Оригинальность и новизна технологических решений при разработке новых биотехнологий заключалась в том, что при глубинном культивировании микромрицетов в качестве регуляторов и стимуляторов биосинтеза ферментов использовались наноматериалы. Возможность использования наноматериалов в технологических целях заключается в том, что многие соединения в наноразмерном состоянии приобретают новые свойства и становятся весьма активными в биологическом отношении, что делает перспективным их применение в медицине, фармакологии, производстве продуктов питания, при решении экологических и сельскохозяйственных проблем. Для повышения биосинтетических способностей продуцентов была протестирована большая группа нанокислов металлов, из числа которых индивидуально для каждого штамма были отобраны наиболее перспективные наночастицы; выявлены их оптимальные размеры и концентрации:

- для *Trichoderma koningii* CNMN FD 15 — наночастицы ZnO, с оптимальными размерами 30 нм, в концентрациях 5–10 мг/л среды;

- для *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 — наночастицы Fe₃O₄, с оптимальными размерами 65–70 нм, в концентрации 10 мг/л среды;
- для *Aspergillus niger* CNMN FD 01 — наночастицы TiO₂, с оптимальными размерами 40 нм, в концентрации 10 мг/л среды;
- для *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 — наночастицы Fe₃O₄, с оптимальными размерами 70 нм, в концентрации 5–10 мг/л среды.

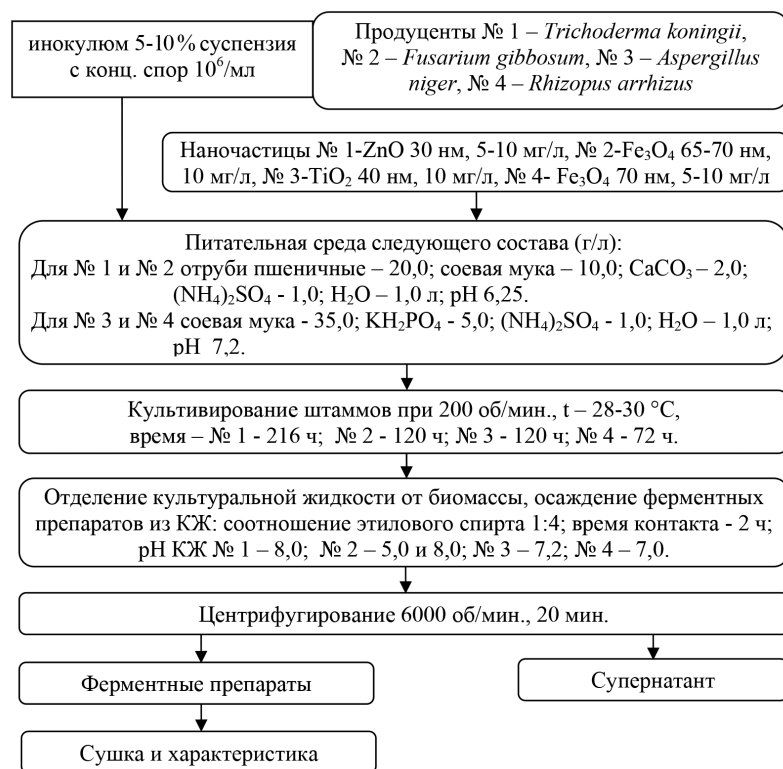
Наночастицы вносились в посевной материал непосредственно перед посевом. Предварительно они несколько раз обрабатывались на ультразвуковой бане DA-96 DADi в течение 1–2 мин. до полного растворения конгломератов.

Глубинное культивирование продуцентов осуществлялось на средах подобранного состава:

- для *Trichoderma koningii* CNMN FD 15 и *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 (г/л): отруби пшеничные — 20,0; соевая мука — 10,0; CaCO₃ 2,0; (NH₄)₂SO₄ –1,0; H₂O — 1,0 л; pH 6,25;
- для *Aspergillus niger* CNMN FD 01 и *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 (г/л): соевая мука — 35,0; KH₂PO₄ –5,0; (NH₄)₂SO₄ –1,0; H₂O — 1,0 л; pH 7,2.

Использование нанокислов металлов в процессах глубинного культивирования продуцентов обеспечивало возникновение стимулирующего эффекта, уровень которого у штаммов был различным в зависимости от их физиолого-биохимических особенностей и свойств синтезируемых ими ферментных комплексов. У штаммов *Trichoderma koningii* CNMN FD 15 и *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 было установлено увеличе-

Технологическая схема получения ферментных препаратов протеолитического и липолитического действия при глубинном культивировании микромицетов *T. koningii* CNMN FD 15, *F. gibbosum* CNMN FD 12, *A. niger* CNMN FD 01, *R. arrhizus* CNMN FD 03 в присутствии подобранных наночастиц металлов



ние энзиматической активности всех трех типов протеаз, входящих в состав их ферментных комплексов, соответственно, по сравнению с максимальными контролями:

- на 25,9% и 17,7% (кислые протеазы);
- на 192,6% и 48,1% (нейтральные протеазы);
- на 12,9% и 14,3% (щелочные протеазы).

Период максимального накопления ферментов при этом не изменяется, составляя 9 суток и 5 суток, соответственно.

У микромицета *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 использование наночастиц Fe_3O_4 обеспечивает значительное усиление липолитической активности в 3 раза по сравнению с максимальным контрольным вариантом; а у штамма *Aspergillus niger* CNMN FD 01 липолитическая активность увеличивается на 55,3–57,5% при использовании наночастиц TiO_2 . Период максимального накопления внеклеточных липаз составил 3 суток и 5 суток, соответственно.

При разработке новых биотехнологий не менее важным представляется подбор оптимальных условий выделения ферментных препаратов из культуральной жидкости (КЖ) продуцентов, обеспечивающих их максимальный выход и сохраняющих высокий уровень энзиматической активности:

- соотношение КЖ и этилового спирта (в качестве осадителя) — 1:4;
- продолжительность их контакта — 2 часа;
- оптимальные (для полноты осаждения) значения pH культуральной жидкости: pH 8,0 (*Trichoderma koningii* CNMN FD 15); pH 5,0 и 8,0 (*Fusarium*

gibbosum CNMN FD 12 — два различных значения pH позволяют получать ферментные препараты с разным соотношением кислых и щелочных протеаз); pH 7,0 (*Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03); pH 7,2 (*Aspergillus niger* CNMN FD 01).

Установлено, что оптимально подобранные условия выделения ферментных препаратов являются идентичными как для контрольных, так и для оптимизированных препаратов. При этом стимулирующий эффект, полученный от использования наночастиц, после выделения препаратов из культуральной жидкости, сохраняется практически на достигнутом уровне.

Основные этапы направленного синтеза внеклеточных гидралаз при глубинном культивировании микромицетов с использованием наноматериалов представлены на схеме.

Синтезированным и выделенным в подобранных условиях ферментным препаратам была дана физико-химическая характеристика, включающая определение:

- pH оптимумов их действия;
- pH стабильности;
- температурных оптимумов действия;
- термостабильности.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что новые биотехнологии с использованием наноматериалов обеспечивают повышенный уровень биосинтеза внеклеточных протеаз и липаз (в лучших вариантах в 1,5; 2,0 и даже 3 раза) и высокое качество получаемых ферментных препаратов с улучшенными физико-химическими свойствами (по сравнению с контрольными

ми препаратами): более расширенными рН оптимумами действия внеклеточных протеаз и липаз, особенно в кислой области рН; достаточно высокой рН- и термостабильностью, включающей способность восстанавливать свою исходную активность после термообработки в течение 60 мин при высоких температурах (60–80°C).

Список литературы

1. Deseatnic-Ciloci A., Tiurina J., Bivol C. et al. Tulpina de fungi *Trichoderma koningii* Oudemans CNMN FD 15 — producătoare de proteaze acide, neutre și alcaline. Brevet de invenție MD 4285. 2014.05.31.
2. Deseatnic-Ciloci A., Tiurina J., Guțul T. et al. Procedeu de cultivare a tulpinii de fungi *Trichoderma koningii* CNMN FD 15. Brevet de invenție MD 4445. 2017.06.03.
3. Deseatnic-Ciloci A., Tiurina J., Lupașcu G. et al. Tulpina de fungi *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 producător de proteaze acide și neutre, xilanaze și β -glucozidaze. Brevet de invenție MD 4186. BOPI 11/2012.
4. Ciloci A., Bivol C., Tiurina J. et al. Procedeu de cultivare a tulpinii de fungi *Aspergillus niger* CNMN FD 01 producătoare de lipaze. Brevet de invenție MD 4566. În: BOPI 2018.05.31, p. 42–43.
5. Deseatnic-Ciloci A., Sîrbu T., Tiurina J., Labliuc S. Tulpina de fungi *Aspergillus niger* producătoare de enzime lipolitice. Brevet de invenție MD 2362. În: BOPI 2004.01.31, p. 32.
6. Deseatnic-Ciloci A., Sîrbu T., Tiurina J., Labliuc S. Tulpina de fungi *Rhizopus arrhizus* Fisher 67 — producătoare de enzime lipolitice. Brevet de invenție MD 2458. BOPI №1, 2004.

МЕТАБОЛИТЫ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM* (CURTIS) P. KARST, ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ НАРУЖНЫХ СРЕДСТВ, УЛУЧШАЮЩИХ ТРОФИКУ И РЕГЕНЕРАЦИЮ ТКАНЕЙ

Гольшикин А.В.¹, Альмяшева Н.Р.¹, Ярина М.С.¹, Усов А.И.²,
Иванова Е.С.³, Замкова М.А.³, Краснопольская Л.М.¹

¹НИИ по изысканию новых антибиотиков, Москва

²Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН

³Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина

Погруженная культура лекарственных базидиальных грибов является перспективным источником активных фармацевтических субстанций (АФС), на основе которых могут быть получены новые наружные средства, улучшающие трофику и регенерацию тканей, в частности, для лечения лучевых поражений кожи и слизистых. Высокая скорость роста, широкие биосинтетические возможности и способность к утилизации различных субстратов растительного происхождения позволяют использовать некоторые виды лекарственных базидиомицетов при создании высокоэффективных безотходных биотехнологических процессов, обеспечивающих снижение экономических рисков.

Цель настоящей работы заключалась в создании АФС на основе метаболитов базидиального гриба *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst, участвующих в индукции иммунного ответа и осуществляющих защиту от прооксидантов.

Для разработки АФС были выбраны две основные группы метаболитов — низкомолекулярные соединения и полисахариды. Как известно, полисахариды и их комплексы с белками способны к индукции синтеза цитокинов, играющих одну из основных ролей в защите организма от инфекций, аллергенов, радиации и других агентов, вызывающих поражения кожных покровов. Наиболее изучены биологически активные биополимеры, продуцируемые грибами, относящимися к видам *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., *G. lucidum*, *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (Автономова, Краснопольская, 2013, Краснопольская и др., 2015, Sharma

et al., 2018, Wasser, 2011). Среди низкомолекулярных биологически активных метаболитов базидиомицетов наибольшее практическое значение имеют терпеноиды и соединения фенольной природы, так как их высокая антирадикальная активность и способность к ингибированию перекисного окисления липидов обеспечивают восстановление поврежденных кожных покровов (Альмяшева и др., 2017). Отмечено, что изопреноиды, выделенные из погруженной культуры грибов *H. erinaceus* и *G. lucidum*, обладают противовоспалительными и антиаллергическими свойствами, а также способны к защите клеток от ионизирующего облучения (Wasser, 2011).

В опытах *in vitro* была изучена способность АФС, полученной из погруженной культуры гриба *G. lucidum* штамм 5–1, и входящих в ее состав фракций низкомолекулярных соединений и полисахаридов к индукции синтеза цитокинов клеточной линией ТНР–1. Было показано, что обработка клеток полученной АФС приводила к образованию ФНО-альфа, ИЛ–1-бета, ИЛ–6, индукции ИНФ-гамма отмечено не было. В результате проведенных экспериментов было установлено, что наибольшей иммуномодулирующей активностью обладает субфракция водорастворимых экзополисахаридов, тогда как водо- и щелочерастворимые эндополисахариды в условиях эксперимента практически не проявили способности к индукции синтеза цитокинов. В полученных фракциях и субфракциях экзо- и эндополисахаридов контролировали состав моносахаридов. Концентраты низкомолекулярных соединений, выделенных из АФС, способствовали снижению уровня ИЛ–6 и ФНО-альфа, а также проявили высокую ан-

тирадикальную активность, что может свидетельствовать об их противовоспалительных свойствах. Однако, их наличие в АФС приводило к некоторому снижению уровня ФНО-альфа и ИЛ-6. Состав получаемого концентрата низкомолекулярных соединений контролировали методом ВЭЖХ.

Таким образом, было показано, что базидиомицет *G. lucidum* штамм 5–1 является продуцентом соединений с широким спектром биологической активности и погруженная культура гриба может найти применение в качестве источника АФС для новых наружных лекарственных средств.

ПОИСК МИКРОМИЦЕТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ ПЕРЕРАБОТКИ КЕРАТИНСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ

Гордонова И.К., Никитина З.К.

Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, Москва.

Рост численности населения планеты и урбанизация являются причинами увеличения количества и разнообразия отходов, образуемых промышленными и сельскохозяйственными предприятиями [1]. Свойства микроорганизмов разрушать различные вещества широко используются в настоящее время в биотехнологии при переработке отходов различных производств [2–4]. Важным направлением современной биотехнологии являются исследования, направленные на расширение возможностей переработки кератинсодержащего сырья с целью обеспечения экологичности производств за счет создания безотходных и малоотходных технологий при максимальном вовлечении побочных продуктов переработки в основное производство. В связи с этим актуальны исследования, направленные на использование ферментативных процессов переработки кератинсодержащего сырья, в том числе с применением штаммов — продуцентов кератинолитических ферментов [5]. Продуценты протеолитических ферментов обнаружены среди самых различных групп микроорганизмов: бактерий, микромицетов, актиномицетов [6]. Несмотря на распространение протеолитических ферментов в природе и высокие объемы их производства в промышленности, протеолитические ферменты с кератинолитическим действием требуют более детального изучения [7, 8].

Цель работы — поиск микромицетов из коллекции ФГБНУ ВИЛАР, перспективных для использования в ферментативных процессах переработки кератинсодержащих отходов.

В качестве биообъектов использовались дейтеромицеты из музейной коллекции ФГБНУ ВИЛАР: *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*, *Cl. sphaerospermum*, *Penicillium citrinum*. Для выбора наиболее перспективных штаммов использовали чашечный скрининг-метод определения ферментативной активности дейтеромицетов [9]. Питательной средой в этом случае служил минеральный фон среды Чапека с заменой сахарозы на 2% кератин волос. Об активности секретируемых протеиназ судили по индексу лизиса кератина, определяемому соотношением площади лизиса к площади колонии по следующей формуле: $I_{\text{лиз}} = R^2_{\text{лиз}} / R^2_{\text{кол}}$, где $R_{\text{лиз}}$ — радиус зоны лизиса, $R_{\text{кол}}$ — радиус колонии.

Культивирование в глубинных условиях и определение протеолитической активности культуральной жидкости проводили по ранее разработанной методике [9].

При сравнении развития различных дейтеромицетов на средах с кератином установлено, что наибольшие диаметры колоний отмечались у *P. citrinum* и *Cl. sphaerospermum*, а минимальные — у *A. flavus*. Максимальный диаметр колоний *P. citrinum* превышал таковой *A. flavus* на 93,2%, *C. herbarum* — на 63,9%.

Результаты экспериментов по поверхностному культивированию дейтеромицетов на средах с кератином представлены на рисунке 1. Показано, что к 3 суткам культивирования все культуры начинали рост на среде с кератином. Скорость роста *P. citrinum* практически на всех этапах культивирования была больше, чем у других культур. Максимальная скорость роста этого дейтеромицета наблюдалась на 4 сутки культивирования. Аналогичный показатель у *Cl. herbarum* достигался на 2 суток позже, также как и у *Cl. sphaerospermum* и был ниже на 6 и 37% соответственно, чем у пеницилла. Максимальная скорость *A. flavus* зафиксирована на 5 сутки и была почти в 2 раза меньше, чем у *P. citrinum*.

Несмотря на то, что все исследованные нами дейтеромицеты росли на средах с заменой сахарозы на кератин и, следовательно, обладали кератинолитической активностью, видимые зоны лизиса, свидетельствующие о секреции ферментов, образовывались при поверхностном культивировании не у всех культур (таблица).

Рисунок 1— Скорости радиального роста микромицетов при культивировании на средах с кератином

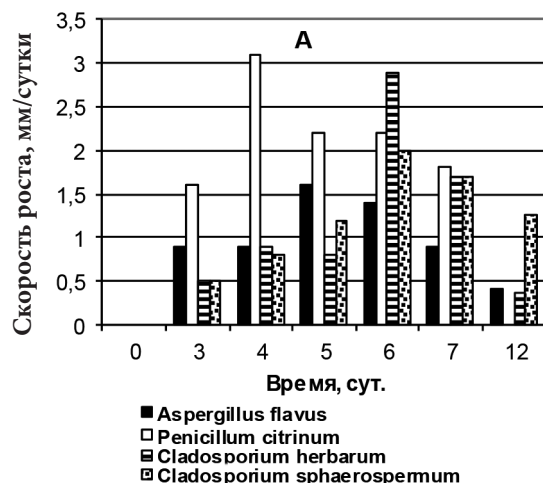


Таблица — Индексы лизиса микромицетов при росте на кератинсодержащем субстрате

Микромицет	6 сут.	7 сут.	12 сут.
<i>Aspergillus flavus</i>	1,0	1,0	1,0
<i>Cladosporium herbarum</i>	1,0	1,21±0,62	1,16±0,65
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	1,07±0,58	1,40±0,73	1,37±0,61
<i>Penicillium citrinum</i>	1,0	1,0	1,0

Результаты экспериментов показали, что зоны лизиса образовывали только дейтеромицеты рода *Cladosporium*. Индексы лизиса у *Cl. sphaerospermum* были несколько выше, чем у *Cl. herbarum*, при этом зоны лизиса появлялись раньше. Максимальный индекс лизиса отмечался у обеих культур на 7 сутки роста.

В результате анализа совокупности полученных результатов (скорости роста на средах с кератином, размеров колоний, зон лизиса и индексов лизиса) для дальнейшего изучения были отобраны штаммы *Cl. sphaerospermum* и *P. citrinum* как наиболее перспективные для получения кератиназ. У *Cl. sphaerospermum* фиксировались наибольшие значения индекса лизиса, а *P. citrinum*, хотя и не образовывал видимых зон лизиса, демонстрировал максимальный рост на кератине, что могло иметь существенное значение в дальнейшем при масштабировании процесса получения ферментов.

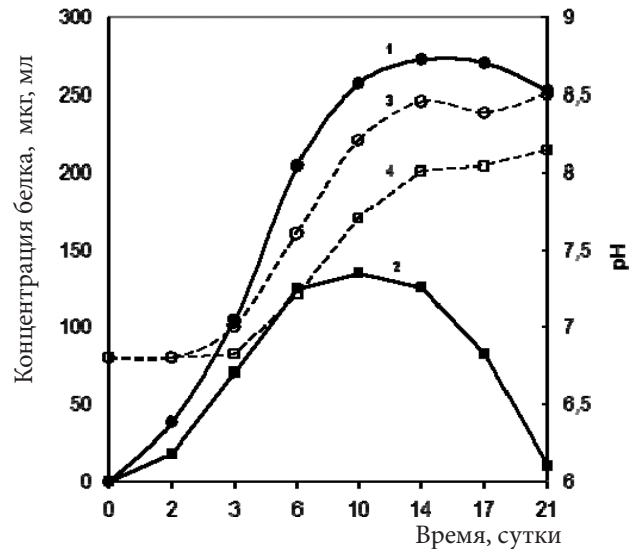
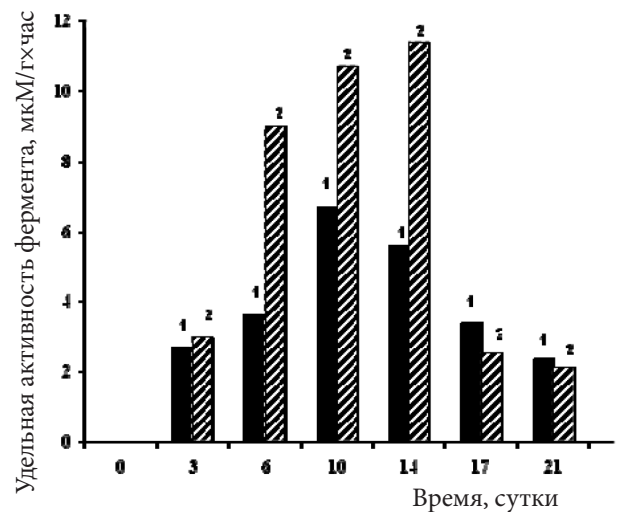
Дальнейшая работа заключалась в проведении глубинного культивирования отобранных микромицетов на среде Чапека с частичной заменой сахарозы на кератин для индукции кератинолитических ферментов. При культивировании *Cl. sphaerospermum* и *P. citrinum* было отмечено постепенное подщелачивание культуральной среды (Рис. 2). Самые высокие значения pH среды достигались после двухнедельного культивирования микромицетов. Полученные закономерности изменения pH культуральной жидкости, являющиеся результатом дезаминирования и образования иона аммония при кератинолизе, полностью согласуются с данными литературы [10]. Максимальное значение pH культуры *P. citrinum* (8,5) было несколько выше, чем аналогичный показатель *Cl. sphaerospermum* (8,15), что свидетельствует о его возможной более высокой кератинолитической активности.

Установлено, что на начальных этапах культивирования *Cl. sphaerospermum* и *P. citrinum* уровень экскретированного белка обеими культурами незначителен, но начиная с четвертых суток, его количество в среде резко возрастало и достигало максимальных значений для *Cl. sphaerospermum* на 9-е сутки, а для *P. citrinum* — на 14-ые сутки (Рис. 2). Установлено, что содержание внеклеточного белка в культуральной жидкости *P. citrinum* было выше на протяжении всего периода культивирования, а максимальная его концентрация превышала таковую у *Cl. sphaerospermum* в 1,97 раза.

Показано, что обе культуры секретируют в культуральную жидкость ферменты, обладающие протеолитической активностью (Рис. 3). При этом *Cl. sphaerospermum* на протяжении 14 суток культивирования обладал большей удельной протеолитической активностью секретируемых ферментов по сравнению

Рисунок 2 — Накопление внеклеточного белка и pH среды при глубинном культивировании микромицетов

- 1 — белок в культуральной среде *P. citrinum*
 2 — белок в культуральной среде *Cl. sphaerospermum*
 3 — pH культуральной среды *P. citrinum*
 4 — pH культуральной среды *Cl. sphaerospermum*

Рис. 3. Удельная протеолитическая активность культуральной жидкости дейтеромицетов 1 — *P. citrinum*, 2 — *Cl. sphaerospermum*

с *P. citrinum*. Значительное увеличение секреции протеолитических ферментов культурами совпадало по времени с увеличением количества внеклеточного белка в культуральной жидкости. Максимальная удельная протеолитическая активность *P. citrinum* отмечалась на 10-е сутки культивирования и составляла 6,7 мкМ/гх час. Максимум удельной протеолитической активности *Cl. sphaerospermum* достигался несколько позже, к 14 суткам, но при этом величина удельной протеолитической активности значительно, почти в 2 раза, превышала таковую для *P. citrinum* и составляла 11,4 мкМ/гх час.

Полученные результаты позволяют считать изученные штаммы *Cl. sphaerospermum* и *P. citrinum* перспективными для дальнейших исследований возможности

их использования в ферментативных процессах переработки кератинсодержащих отходов.

Список литературы

1. Миленцева И.С. Изучение критериев качества и безопасности функциональных продуктов питания, полученных из вторичных продуктов переработки растительного сырья / И.С. Миленцева, О.О. Бабич, Л.А. Остроумов // Современные наукоемкие технологии. — 2012. — №12. — С. 24–27.
2. Касаткина А.Н. Использование мультиэнзимных композиций для деструкции пивной дробины // Биотехнология. 2008. № 2. С. 59–65.
3. Башашкина Е.В., Панфилов В.И., Шакир И.В. Способ получения биомассы кормовых дрожжей. // Патент России № 2393719, 10.07.2010, Бюл. № 19, 5с.
4. Никитина З.К. Использование отходов лекарственного растительного сырья для биотехнологического получения гидролитических ферментов. / З.К. Никитина, И.К. Гордонова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2019—№9. — Т. 22. — С. 37–42. DOI: 10.29296/25877313–2019–09–06
5. Полетаев А.Ю. Переработка вторичного кератинсодержащего сырья и получение белковых гидролизатов на пищевые и кормовые цели / А.Ю. Полетаев, И.С. Миленцева, О.О. Бабич, А.И. Морозова // Техника и технология пищевых производств. — 2011. — №2. — С. 7–12.
6. Полетаев А.Ю. Разработка технологии переработки кератинсодержащего сырья с использованием *Streptomyces ornatus* S–1220: автореф. дис. канд. техн. наук. — Кемерово, 2011. — 18 с.
7. Cai C.-G. Purification and characterization of keratinase from a new *Bacillus subtilis* strain / C.-G. Cai, J.-S. Chen, J.-J. Qi, Y. Yin, X.-D. Zheng // J Zhejiang Univ Sci B. — 2008. — №9(9). — P. 713–720.
8. Nayaka S. Occurrence and extracellular enzyme potential of Actinomycetes of a thermotolerant, northern region of Karanataka, Inida / S. Nayaka, G.M. Vidyasagar // International Multidisciplinary Research Journal. — 2012. — №2(12). — P. 40–44.
9. Гордонова И.К. Изучение протеолитических свойств дейтеромицетов при росте на различных кератиновых субстратах. / И.К. Гордонова, З.К. Никитина, Х.Ч. Зон, С.В. Томашевич, М.Б. Яковлева, В.А. Быков // Вопросы биол. медиц. и фармацевт. химии. — 2009. — №1. — С. 35–40.
10. Kunert J. Physiology of keratinolytic fungi // Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi / Eds R. K. S. Kushwara et al. — Bilbao, 2000. — P. 77–85.

МИКОЛОГИЧЕСКАЯ ПАТЧ-КЛАМП-ОСМОМЕТРИЯ И ПАТЧ-КЛАМП-ЗИМОГРАФИЯ: ОТ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ДО ПАТЧ-КЛАМП-ТАКСОНОМИИ ПО БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИМ И МЕЗОКИНЕТИЧЕСКИМ ХЕМИОСМОТИЧЕСКИМ И ЭНЗИМОЛОГИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ

Градов О.В.

ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

Известно, что микроэлектродные методы локальной фиксации потенциала на гигаомном контакте (между микропипеткой и мембраной) распространены в микологии достаточно широко, в силу чего исследование ионного транспорта и ионных градиентов на мембранах грибов техниками патч-кламп (patch clamp) и вольтаж-кламп (voltage clamp) является достаточно информативным [1,2]. Есть достаточно большая таксономическая выборка по видам грибов, исследование которых данными методами было эвристически ценным [3–7]. Анализируются различные формы и аспекты катионной и анионной проводимости, не исключая механочувствительных ионных каналов [3,7], систем фосфатного транспорта и анионных каналов [4,5]. Кроме того, теми же инструментами (но, как правило, фазочувствительными [8,9]) исследуются механизмы эндоцитоза у грибов — как правило, на примере дрожжей [10,11]. Дрожжи (*Saccharomyces*) являются очень распространенным объектом для отработки патч-кламп-техник, в силу простого обращения, массовой наработки биоматериала и отсутствия жесткой клеточной стенки — в частности, для исследования катионного транспорта [12,13] (каналы, при этом, могут встраиваться и ксенонные, из других организмов). Наиболее классиче-

ским примером последнего является протонная помпа (или протонный насос, синонимично), исследуемая на вакуолях гигантских дрожжевых клеток, а также протонно-анионный котранспорт, исследуемый на дрожжевых клетках [14–16]. Причина такого сугубого интереса лежит в области хемиосмотической теории комплексов ионного транспорта в дрожжевых вакуолях и рН / Eh компартментов [17], а также строения и функции дыхательных цепей мембран, в том числе — митохондрий дрожжей [18,19]. Через последние могут свободно проникать небольшие незаряженные молекулы и гидрофобные молекулы — при этом, энергия, выделяющаяся при переносе электронов по цепи, приводит к переносу протонов из матрикса митохондрии в межмембранное пространство, в силу чего на внутренней мембране образуется градиент концентраций протонов и разность потенциалов (0,14 В — с положительным зарядом на наружной части мембраны и отрицательным на внутренней). Таким образом, хемиосмотическое (по Митчеллу) или микрохемиосмотическое (в терминологии Де — Кучковского) сопряжение, лежащее в основе биоэнергетики, может исследоваться методами / инструментами патч-кламп на модельных дрожжевых клетках, характеризующих их физиологическое состояние.

Совокупность вышеуказанных причин позволяет сформулировать подходы к комплексному исследованию дрожжей (и, *sensu lato*, “грибов” [3–7]) данными методами:

По аналогии с пфедферовской осмометрией дрожжевых клеток [20] можно ввести «митчелловскую хемиосмометрию» или «микрочемиосмометрию» с использованием инструментов патч-кламп регистрации ионного транспорта, дающих кинетическую информацию, замещающую цитоосмометрическую.

Учитывая различие регистрограмм патч-кламп-отклика различных грибов [3–7] и грибов с различными, в том числе — «гетерологическими» каналами [13,21,22], можно организовать молекулярную патч-кламп-таксономию на принципах патч-кламп-контроля микрохемиосмотической и диффузионно-транспортной активности цитоплазматических мембран грибов в нативной и модифицированной среде [23].

Учитывая структурно-макрокинетическую и мезокинетическую активность мембранного транспорта и сопряженных с ним энзиматических систем (как пример целесообразно привести пиррофосфатазы [15] и АТФазы мембран и вакуолей дрожжей, в том числе — мутантных [24,25]), рационально ставить вопрос об использовании хемиосмометрических данных, как минимум, на дрожжевых клетках, а далее — в широкой выборке микологических систем, в качестве зимографических дескрипторов [26], в том числе в мониторинге макрокинетической дрожжевой переработки сырья в пищевой индустрии и иной промышленной биотехнологии [27].

Работы в данном направлении были начаты нами в 2016 году (с обработки ряда чужих патч-кламп-данных, предоставленных дружественными лабораториями), однако вынужденно свернуты впоследствии при распаде коллектива и отъезде / уходе коллег в другие лаборатории. Целью данного сообщения является только информирование о цели работ и аргументация целесообразности проведения их в перспективе. Первичные данные будут опубликованы в виде отдельных работ (с иллюстрациями и исходными данными в приложении) большего объема, чем позволяет формат настоящего сборника.

Список литературы

- Garrill, A., & Davies, J. M. (1994). Patch clamping fungal membranes: a new perspective on ion transport. *Mycological research*, 98(3), 257–263.
- Lew, R. R. (2006). Use of double barrel micropipettes to voltage-clamp plant and fungal cells. In *Plant Electrophysiology* (pp. 139–154). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Zhou, X. L., Stumpf, M. A., Hoch, H. C., & Kung, C. (1991). A mechanosensitive channel in whole cells and in membrane patches of the fungus *Uromyces*. *Science*, 253(5026), 1415–1417.
- Harrison, M. J., & van Buuren, M. L. (1995). A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*, 378(6557), 626–629.
- Roberts, S. K., Dixon, G. K., Dunbar, S. J., & Sanders, D. (1997). Laser ablation of the cell wall and localized patch clamping of the plasma membrane in the filamentous fungus *Aspergillus*: characterization of an anion-selective efflux channel. *The New Phytologist*, 137(4), 579–585.
- Heyer, M. (1997). *Elektrophysiologische Patch-clamp-Untersuchungen im whole cell modus an Protoplasten von Wildtyp-, Mutanten- und Transformantenzellen der Hefe Schizosaccharomyces pombe und Saccharomyces cerevisiae* (Doctoral dissertation).
- Watts, H. J., Veacute, A. A., Perera, T. H. S., Davies, J. M., & Gow, N. A. R. (1998). Thigmotropism and stretch-activated channels in the pathogenic fungus *Candida albicans*. *Microbiology*, 144(3), 689–695.
- Adamovich, E. D., Alexandrov, P. L., Gradov, O. V. (2017). Lock-in/phase-sensitive spectral nanovoltmetric patch-clamp with frequency discrimination (ϕ - ω -patch-clamp) as simple technology for single ion channel registration in cellular biomedicine. *EJMB*, 4(1): 30–58.
- Градov, О. В. (2019). Фазочувствительные спектральные методы локальной фиксации потенциала и топология везикулярного транспорта с позиций концепции структурной устойчивости: комбинированный подход DSP и теории катастроф Рене Тома. *Гены и клетки*, 16(3):77–78.
- Bertl, A., Carrillo, L., Koehler, T., Bandmann, V., Ayaz, M., & Homann, U. (2013). Real-time recording of individual endocytotic and exocytotic events in yeast using the patch-clamp techniques. *Yeast*, 30, 114.
- Carrillo, L., Koehler, T., Nietz, D., Bandmann, V., Homann, U., & Bertl, A. (2013). Temperature dependent modulation of exo- and endocytosis in the yeast *sec6-4* mutant analyzed by patch-clamp capacitance recording. *Yeast*, 30, 111.
- Minorsky, P., Zhou, X. L., Culbertson, M., & Kung, C. (1989). A patch-clamp analysis of a cation-current in the vacuolar membrane of the yeast *Saccharomyces*. *Plant Physiol*, 89(Suppl), 882.
- Bertl, A., Anderson, J. A., Slayman, C. L., & Gaber, R. F. (1995). Use of *Saccharomyces cerevisiae* for patch-clamp analysis of heterologous membrane proteins: characterization of *Kat1*, an inward-rectifying K^+ channel from *Arabidopsis thaliana*, and comparison with endogenous yeast channels and carriers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(7), 2701–2705.
- Roberts, S. K., Dixon, G. K., Fischer, M., & Sanders, D. (2001). A novel low-affinity H^+ - Cl^- -co-transporter in yeast: characterization by patch clamp. *Mycologia*, 93(4), 626–633.
- Nakanishi, Y., Yabe, I., & Maeshima, M. (2001). Patch clamp analysis of a heterologously expressed membrane transporter in giant yeast cell-plant vacuolar H^+ -pyrophosphatase. *Plant and cell physiology*, 42, s215.
- Nakanishi, Y., Yabe, I., & Maeshima, M. (2003). Patch clamp analysis of a H^+ pump heterologously expressed in giant yeast vacuoles. *Journal of biochemistry*, 134(4), 615–623.
- Wada, Y., & Anraku, Y. (1994). Chemiosmotic coupling of ion transport in the yeast vacuole: its role in acidification inside organelles. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 26(6), 631–637.
- Garland, P. (1974). Variations on a chemiosmotic theme altered respiratory chains of yeast mitochondrial and bacterial-membranes. *Proceedings of the Australian Biochemical Society*, 7, P4.

19. Herick, K., Krämer, R., & Lühring, H. (1997). Patch clamp investigation into the phosphate carrier from *Saccharomyces cerevisiae* mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1321(3), 207–220.
20. Градов, О. В., Зайцев, Е. В., Скрынник, А. А., Яблоков, А. Г. (2017). Применение лазерной видеомиллисометрии в анализе голофитного (осмотрофного) питания дрожжей на чипе. В сб.: *Современная микология в России (2017, том 6)*, Т. 6, С. 94–96. Материалы 4-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии Москва.
21. Bertl, A., Anderson, J., Slayman, C., & Gaber, R. (1994). Patch-clamp characterization of the Arabidopsis Kat1 channel expressed in *Saccharomyces*-comparison of endogenous and heterologous ion currents in the yeast membrane. *Journal of General Physiology*, 104(6), A13-A14.
22. Bihler, H., Slayman, C. L., & Berti, A. (1998). Patch-clamp analysis of a novel cation uptake system in *Saccharomyces cerevisiae* which is independent of DUK1, TRK1, and TRK2. *Biophysical Journal*, 74(2), A319.
23. Александров, П. Л., Градов, О. В. (2017). Роль ионных каналов в биогеохимической эволюции таксонов и фенетическая систематика с использованием библиотеки ключей, основанной на фингерпринтинге баз регистрограмм патч-кламп-спектроскопии в условиях, моделирующих геохимическую среду. Часть I. *Труды БИОГЕЛ*, 26:85–101.
24. Ramirez, J. A., & Lecar, H. (1990). Patch-clamp studies of point and regulatory mutants of yeast plasma-membrane ATPase (PMA1). *Biophysical Journal*, 57(2), A321.
25. Yabe, I., Horiuchi, K. I., Nakahara, K., et al. (1999). Patch clamp studies on V-type ATPase of vacuolar membrane of haploid *Saccharomyces cerevisiae*. Preparation and utilization of a giant cell containing a giant vacuole. *Journal of Biological Chemistry*, 274(49), 34903–34910.
26. Gamero-Sandemtrio, E., Gómez-Pastor, R., & Matalana, E. (2017). Zymography methods to simultaneously analyze superoxide dismutase and catalase activities: novel application for yeast species identification. In *Zymography* (pp. 189–198). Humana Press, New York, NY.
27. Melikhov, I. V., & Tret'yakov, Y. D. (2013). Approaches to the mesokinetic theory of search for the optimal technological route for conversion of a raw material into the desired material. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 47(1), 36–38.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛИЧИНОК БОЛЬШОГО МУЧНОГО ХРУЩАКА *TENEBRIO MOLITOR* К *METARHIZIUM ANISOPLIAE*

Гулик Е.С., Чикин Ю.А., Харлова А.А.
Томский государственный университет

Личинки большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* являются опасными вредителями хлебных запасов (Соколов, 2004). Помимо уничтожения части продуктов, они загрязняют их экскрементами и личиночными шкурками (Васильев, 1974).

Из-за негативных последствий применения химических средств защиты, как для людей, так и для окружающей среды, особенно в закрытых помещениях, актуален поиск биологических средств борьбы с вредителями. Энтомопатогенные грибы представляют большой интерес как продуценты ферментов, токсинов и других биологически активных веществ (Евлахова, 1974). Специфичность действия в отношении насекомых и нетоксичность или слабая токсичность для теплокровных позволяют считать возможным использование токсинов энтомопатогенных грибов в качестве инсектицидов. В предварительных исследованиях активности различных энтомопатогенных средств *T. molitor* широко используют в качестве тест-объекта (Турицин, 2010), в сравнительных исследованиях эффективности энтомопатогенных грибов на разных объектах *T. molitor* демонстрирует наибольшую чувствительность (Kilic, 2019).

Цель работы — изучение чувствительности личинок различного возраста большого мучного хрущака к энтомопатогенному грибу *Metarhizium anisopliae*.

В эксперимент отбирали личинок *T. molitor* без видимых повреждений и нехарактерной пигментации в

виде пятен. Личинок делили условно (с учетом их массы) на 3 возраста: 1-й или младший (средняя масса ≈ 25 мг), 2-й или средний (средняя масса ≈ 51 мг) и 3-й или старший (средняя масса ≈ 94 мг) возраст. Было использовано по 180 экземпляров личинок каждого возраста.

Для заражения насекомых использовали три изоляты *M. anisopliae* разного происхождения (см. табл. 1).

Таблица 1. Использованные в опыте изоляты *Metarhizium anisopliae*

Изолят	Происхождение изолятов
M1	Выделен Чикиным Ю.А. в 2010 г. из таракана (<i>Nauphoeta cinerea</i>) из инсектария кафедры защиты растений БИ
M2	Предоставлен из коллекции кафедры микологии и альгологии МГУ в 2010 г.
M3	Предоставлен Б.А. Борисовым в 2002 г.

В каждом из вариантов опыта было использовано три повторности по 10 личинок *T. molitor* одного возраста, которых помещали в пластиковую чашку Петри диаметром 90 мм с предварительно внесенным инфекционным материалом. Колонии каждого из изолятов гриба были предварительно выращены в чистой культуре на сусло-агаре при температуре 21°C в течение 14 или 21 суток. Затем по 1/3 части колонии стерильно вырезали

и перемещали в чашку Петри. Подопытных насекомых содержали при комнатной температуре (+22–24 °С) в течение 23 суток, ежедневно подсчитывая смертность.

Изучение смертности личинок большого мучного хрущака при заражении двухнедельной культурой изолята М1 показало, что гибель личинок младших возрастов начинается на 5-й день эксперимента. Полная гибель личинок младших возрастов отмечена на 11-й день. Гибель личинок средних возрастов началась на 4-й день, а полная гибель была установлена на 15-й день наблюдений. В то время как гибель личинок старших возрастов *T. molitor* началась на 3-й день, а 100% гибель отмечена на 9-й день.

Таким образом, отмечена небольшая разница чувствительности к изоляту М1 между личинками разных возрастов: чувствительней остальных оказались личинки старших возрастов, а устойчивее — личинки средних возрастов.

При заражении личинок двухнедельной культурой изолята М2 было обнаружено, что гибель личинок младших возрастов начинается на 3-й день эксперимента, а средних возрастов — на 4-й. Полная гибель личинок младших и средних возрастов отмечена на 13-й день. Гибель личинок старших возрастов *T. molitor* началась на 5-й день, а 100%-ная гибель зафиксирована на 11-й день эксперимента.

Таким образом, отмечена незначительная разница чувствительности к изоляту М2 между личинками разных возрастов: чувствительней остальных оказались личинки старших возрастов, а устойчивее — личинки средних возрастов.

При заражении личинок двухнедельной культурой изолята М3 динамика смертности различалась в зависимости от возраста личинок. Личинки младших и старших возрастов начали гибнуть на 5-й день, личинки средних возрастов начали гибнуть на 4-й день. На 19-е сутки у личинок среднего возраста была отмечена 100%-я смертность, у личинок младшего возраста смертность составила 95%. У личинок старшего возраста на 19-е сутки смертность составила 85%.

Таким образом, при заражении изолятом М3, самыми чувствительными оказались личинки среднего возраста, а самыми устойчивыми оказались личинки старшего возраста.

В результате проведенного исследования можно заключить, что использованные двухнедельные культуры изолятов М1 и М2 проявляют почти одинаковую патогенность к личинкам разных возрастов. Изолят М3 оказался наименее патогенен по отношению к личинкам младших и старших возрастов.

Заражение личинок трехнедельными культурами тех же изолятов *M. anisopliae* (М1, М2, М3) сопровождалось разной динамикой смертности в разновозрастных группах.

При заражении трехнедельной культурой изолята М1 наиболее стремительной была гибель личинок младших возрастов (с 5-го по 9-й день). Для личинок средних возрастов была отмечена средняя скорость смертности (с 4-го дня по 10-й день эксперимента). Смертность личинок старших возрастов с 3-го по 9-й день составила 40%, а с 9-х по 10-е сутки — 60%.

Заражение личинок трехнедельной культурой изолята М2 приводило к стремительной гибели личинок

младших возрастов (с 4-го по 8-й день). Динамика смертности личинок средних и старших возрастов была почти одинаковой: со 2-х по 11-е сутки.

При заражении личинок трехнедельной культурой изолята М3 наиболее стремительной была гибель личинок старших возрастов (с 4-го по 17-й день). Для личинок младших возрастов отмечена средняя скорость смертности (с 5-го по 23-й день). Гибель личинок среднего возраста началась на 5-й день, а на 23-й день их смертность составила 90%, что означает наибольшую устойчивость к грибу.

Сравнивая влияние разных трехнедельных культур *M. anisopliae* на личинок *T. molitor*, можно заключить, что изоляты М1 и М2 действуют почти одинаково на личинок разных возрастов. Изолят М3 оказался менее патогенен для всех личинок, хотя личинки среднего возраста были к нему наименее чувствительны.

По степени увеличения патогенности к личинкам разных возрастов изоляты *M. anisopliae* можно расположить в ряд: М3 → М1 → М2. Существенных различий по патогенности к личинкам при использовании грибных культур, выращиваемых 14 и 21 день, выявлено не было, хотя в целом после более длительного выращивания культуры гриба действуют на личинок быстрее (табл. 2).

Таблица 2. Период смертности личинок (в сутках, от начала гибели до снятия опыта) при воздействии культурами *M. anisopliae*

Возраст личинок	3-х недельные культуры			2-х недельные культуры		
	1	2	3	1	2	3
М1	5–9	4–10	3–10	5–11	4–15	3–9
М2	4–8	2–11	2–11	3–13	4–13	5–11
М3	5–23	5–23 ^а	4–17	5–23 ^б	4–19	5–23 ^в
№ изолята	3-х недельные культуры			2-х недельные культуры		

Примечание. В трех вариантах к моменту снятия опыта смертность не была полной и составила:

а) 90%, б) 95%, в) 95%.

Вместе с тем, разница всего в 1–2 дня в скорости поражения личинок разного возраста различными изолятами *M. anisopliae* позволяет предположить, что для первичной оценки патогенности гриба не имеет большого значения возраст подопытных личинок. Это позволяет применять для исследований личинок младших возрастов, сокращая сроки предварительного выращивания личинок.

Специфика данного исследования заключается и в том, что для оценки патогенности грибов использовался способ заражения насекомых при помощи блоков чистой культуры гриба (контактно-алиментарный), а не путем опрыскивания водной суспензией спор. Эксперименты по заражению *T. molitor* суспензией спор широко описано в литературе (Kilic, 2019; Batta, 2010). Тем не менее, в естественных условиях обитания (хранилища зерна, муки и т. п.) заражение личинок жука таким путем маловероятно, а вот контактно-алиментарный способ заражения жуков при заселении заплесневелого субстрата кажется вполне обычным. Поэтому мы считаем, что при заражении насекомых с помощью блоков

чистой культуры гриба возможно наблюдать более типичную картину развития болезни насекомых.

Список литературы

1. Соколов Е.А. Вредители запасов, их карантинное значение и меры борьбы. — Оренбург: Печатный дом «Димур», 2004. — с. 104.
2. Васильев В.П. — Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений в трех томах. Том II. Вредные членистоногие (продолжение), позвоночные. Коллектив авторов. Под ред. акад. В.П. Васильева. К., «Урожай», 1974, с. 608.
3. Евлахова А.А. — Энтомопатогенные грибы. — Издательство «Наука», Л., 1974. — с. 260
4. Турицин С.В. Экологические особенности реализации биологической активности энтомопатогенных нематод (*Nematoda: Steinernematidae*) для контроля численности вредных насекомых: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук / Турицин Владимир Сергеевич. — СПб, 2010. — с. 19.
5. Kilic E, Guven O, Baydar R, Karaca I. The mortality effects of some entomopathogenic fungi against *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera littoralis*, *Tenebrio molitor* and *Blattella germanica*. // *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (1): 33–37, 2019. DOI: 10.9775/kvfd.2018.20278
6. Batta Y, G. Murdoch, Mansfield S. Investigations into the formulation and efficacy of entomopathogenic fungi against larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L., Coleoptera: Tenebrionidae) // *GEN. APPL. ENT.* Vol. 39, 2010, p. 5–8.

ПРИРОДНЫЕ ШТАММЫ МИКРОМИЦЕТОВ ПРОДУЦЕНТЫ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

Холмурадова Н.К., Пулатова О.М., Алимова Б.Х., Махсумханов А.А.,
Зухритдинова Н.Ю, Ташибаев Ш.А., Сафарова И.В.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Известно, что поиск продуцентов, удовлетворяющих технологическим требованиям и адаптированных к росту на искусственных питательных средах, исследование их биологических свойств является одним из приоритетных направлений биотехнологии. Свойством продуцировать лимонную кислоту обладают многие микроорганизмы. Наиболее активным продуцентом используемым в настоящее время для ферментации сахаросодержащих сред с целью промышленного производства пищевой лимонной кислоты является *Aspergillus niger*. В настоящее время на отечественном рынке пищевая лимонная кислота широко представлена зарубежными фирмами.

Цель настоящей работы является поиск, выделение и изучение микроскопических грибов продуцентов лимонной кислоты.

Из различных природных субстратов Республики Узбекистан были выделены 64 штамма мицелиальных грибов, принадлежащих к различным видам. Из них 44 штамма на основании морфолого культуральных признаков были отнесены к роду *Aspergillus*. Первичный отбор по кислотообразующей способности мицелиальных грибов оценивался на агаризованной среде с мелом. Изучение кислотообразующей способности мицелиальных грибов показало, что среди изученных штаммов мицелиальных грибов у 12 штаммов зона растворения мела отсутствовала, у семи штаммов зона растворения мела варьировала от 3,4 до 5,2 мм. Обнаружено, что наиболее высокой, кислотообразующей способностью обладало шесть

штамма, где зона растворения мела варьировало от 6,0 до 7,1 мм.

Следует отметить, что первичный отбор на кислотообразование не дает возможности оценить, какая кислота накапливается в среде. С целью количественного определения биосинтеза ЛК, а также для проверки результатов, полученных методом селекции на агаризованной среде, проводили культивирование отобранных штаммов (14 штаммов) в жидкой среде с сахарозой. Показано, что отобранные штаммы при культивировании на жидкой питательной среде способны синтезировать лимонную кислоту в концентрации от 2,3 до 14,2 г/л. При подборе оптимальных условий среды биосинтез лимонной кислоты у некоторых штаммов увеличивалось на 1,5 и 2 раза. Обнаружено, что у природных штаммов мицелиальных грибов максимальный биосинтез лимонной кислоты в динамике роста наблюдалось в начальные часы культивирования и при этом отмечалось штаммовое различие. Для образования лимонной кислоты у природных штаммов большое значение имеет также исходное количество суспензия спор. При использовании суспензии спор штаммов №5 и №8 в количестве от 2×10^3 до 2×10^4 в динамике роста по сравнению с суспензиями спор тех же штаммов 2×10^5 и 2×10^6 наблюдалось наиболее высокое накопление лимонной кислоты.

Таким образом, у природных штаммов микромицетов максимальный биосинтез лимонной кислоты в динамике роста наблюдалось в начальные часы культивирования. Кроме того, большое значение имеет исходное количество суспензия спор.

ГРИБНЫЕ ИНОКУЛЯТЫ ПРИ КОМПСТИРОВАНИИ ОТХОДОВ В БИОУДОБРЕНИИ

Кураков А.В.¹, Тихонов В.В.¹, Биланенко Е.Н.¹, Бондаренко С.А.^{1,3}, Садыкова В.С.²¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова² НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва³ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

В мире ежегодно на предприятиях сельского хозяйства, пищевой и деревообрабатывающей промышленности образуется огромная масса отходов, с высоким содержанием органической фракции. Часть этих отходов находят применение, но большее их количество сжигается или накапливается, что создает глобальные экологические проблемы. Одними из важнейших направлений биотрансформации органических отходов (исходя их создаваемой дополнительной стоимости продукта и возможной масштабируемости производств) является их переработка в биоудобрения (компост, вермикомпост).

Для реализации задач, касающихся поиска новых решений для более эффективной и безопасной переработки распространенных отходов (навоза, соломы) в биоудобрения с новыми ценными свойствами был проведен долговременный эксперимент по созданию многокомпонентных систем, включающих навоз, солому, торф, дождевых червей и внесением отобранного штамма микроскопического гриба (эффективного деструктора и улучшающего свойства биоудобрения).

Целью работы было оценить влияние вносимого грибного инокулята в перерабатываемые отходы на структуру формирующегося в них сообщества грибов.

Объекты и методы

Проведен детальный мониторинг этой системы на основе показателей относительного обилия и числа колониеобразующих единиц (КОЕ) конкретного вида в 1г воздушно-сухого образца. Для описания структуры грибного сообщества использовали также показатели видового разнообразия.

Были проанализированы следующие варианты субстратов: Н, С, НТ, НС, НС+Ч, НС + Тр, НС+Ч+Тр, НТС, НТС+Ч, НТС + Ч, НТС+Ч+Тр, где Н — навоз коровий, С — солома, Т — торф, Ч — черви, Тр — триходерма, НС — субстрат из навоза с соломой, НТ — субстрат из навоза с торфом, НТС — субстрат из навоза с торфом и соломой, НС+Ч — субстрат из навоза с соломой с добавлением червей, НС+Тр — субстрат из навоза с соломой с добавлением штамма рода триходермы (активного деструктора растительных субстратов и обладающего свойствами PGPR), НС+Ч +Тр — субстрат из навоза с соломой с добавлением червей и триходермы, НТС + Ч — субстрат из навоза с торфом и соломой с добавлением червей, НТС + Тр — субстрат из навоза с торфом и соломой с добавлением триходермы, НТС + Ч + Тр — субстрат из навоза с торфом и соломой с добавлением червей и триходермы. Опыты были проведены в течение 60 и 78 суток, повторность 3-х кратная. Пробы отбирали поэтапно: в начале опыта 0 сут, 10 сут, 20 сут, 40 сут, 60 сут, 78 сут.

Состав грибов и их численность определяли методом посева водных разведений определенных навесок субстрата (10г) на питательную среду мальт-агар (МА), для подавления роста бактерий использовали молочную кислоту (4 мл на 1л среды, рН 5). Посевы проводили в 6-кратной повторности чашек Петри, сначала из 2

разведений (1:100 и 1:1000), затем только из разведения 1:100 как оптимального для последующего анализа. Разброс числа колоний на каждой из чашек одного варианта опыта был незначительным, ошибка не превышала 10%. Грибы выделяли в чистую культуру для дальнейшей идентификации. Современное таксономическое положение видов дано по базе данных: Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>).

Грибы идентифицировали по культурально-морфологическим признакам и с использованием молекулярно-генетических методов на основе анализа ITS рДНК.

Результаты и обсуждение

Получены данные о динамике видового и количественного состава культивируемых грибов, происходящих в процессе компстирования и вермикомпстирования. В течение длительного периода (0–60 сут. и 0–78 сут.) поэтапно были проведены микологические исследования сукцессионных изменений в образцах навоза, соломы, торфа в различных сочетаниях, с внесением дождевых червей и штамма рода *Trichoderma* и без них.

К основным видам, встречающимся с высокой численностью (10^2 – 10^3 в 1г сухого образца) на всех этапах компстирования и вермикомпстирования, можно отнести *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *Dipodascus geotrichum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma* sp., *Penicillium* spp., *Mucor hiemalis*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*. Эти виды отмечены практически во всех вариантах опытов за исключением вариантов с вносимой триходермой. Виды этого рода естественным образом присутствуют в субстрате, однако их численность контролируется многими факторами и остается на определенном уровне. Внесение представителя рода *Trichoderma* в субстраты резко повышает численность этих грибов, и отмечается подавление развития других грибов.

Выявленный факт подавления доминирующих видов, развивающихся при компстировании как навоза, так и навоза с соломой или торфом, приводит к важному выводу о возможности снижения путем внесения грибного инокулята не только интенсивности деструкции отходов и получения ценного биоудобрения, но и снижения опасности грибов — токсинообразователей из группы BSL–2 для человека, работающего с подобными субстратами. В дальнейшем при использовании таких биоудобрений уменьшается интродукция таких видов в почву, и, как следствие, воздействие на растения и попадание в сельхозпродукцию.

Среди грибов, плотность популяции которых снижалась при внесении отобранного нами штамма, были *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *Dipodascus geotrichum*, виды рода *Fusarium*.

Aspergillus fumigatus имеет уровень опасности для человека BSL–2, он основной возбудитель аспергиллезов, типичных ингаляционных микозов, сопровождающихся аллергическими реакциями разных проявлений [1]. Развиваясь практически во всех исследованных субстратах, грибок, судя по возрастающей численности, активно образует споры. Попадая в воз-

дух, эти споры, благодаря малым размерам (2,5–3,0 мкм), попадают в легкие, вызывают легочные аспергиллезы.

A. flavus имеет тот же уровень опасности, что и *A. fumigatus* и является основным агентом аллергических бронхиальных аспергиллезов [1]. Кроме того, этот вид является основным продуцентом афлатоксина. К настоящему времени зарегистрированы главный аллерген *A. flavus* Asp fl 13 (щелочная сериновая протеаза) (www.allergen.org).

Dipodascus geotrichum имеет более низкий по сравнению с аспергиллами уровень опасности BSL-1 и может поражать как кишечный тракт человека, так и вызывать бронхолегочные микозы.

Виды рода *Fusarium*, в частности, отмеченные нами *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. chlamydosporum*, *F. sporotrichioides*, *Fusarium* sp. являются широко известными продуцентами токсинов. В Российской Федерации, согласно стандартам контроля безопасности пищевых и кормовых продуктов, в различных видах продукции регулируют содержание трех фузариотоксинов: дезоксиниваленола (ДОН) (ПДК = 700–1000 мкг/кг сырья), Т-2 токсина (100) и зеараленона (ЗЕН) (200–1000 мкг/кг) (СанПиН 2.3.2.1078–01). Однако эти три микотоксина — только часть широкого спектра токсичных метаболитов, продуцируемых грибами р. *Fusarium* [2]. Из-

вестно, что микотоксины способны долго сохраняться в субстрате, даже после потери грибами-продуцентами жизнеспособности, и могут попадать в почву, а затем и в растения с биоудобрениями.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности в целях улучшения качества переработки органических отходов в биоудобрения внесения в них дополнительного грибного инокулята с большими конкурентными возможностями в отношении захвата субстрата и позитивными свойствами в отношении влияния на растения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18–29–25073.

Список литературы

1. Hoog de G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. Atlas of clinical fungi. 2-nd edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Universitat Rovira i Virgili. 2000. 1126 pp.
2. Мокеева В.Л., Биланенко Е.Н., Антропова А.Б. Еремин С.А., Лебедин Ю.С. Микромикеты — контаминанты муки из пшеницы в процессе длительного хранения // Успехи медицинской микологии. 2018. Т. 19. С. 22–26.

ОКИСЛЕНИЕ ФЕНОЛА ДРОЖЖАМИ *CANDIDA SOJAE*

Кувичкина Т.Н., А.Г. Быков, Е.Н. Капаруллина, Н.В. Доронина, А.А. Макаренко¹, А.Н. Решетиллов

¹Эмульсионные технологии, г. Самара

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, обособленное подразделение ФИЦ «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН»

Фенол и его производные часто обнаруживаются в сточных водах нефтеперерабатывающих производств, газо- и угледобывающей промышленности. Мировое производство фенольных соединений составляет около 50 000 т/год. Фенол относится к токсическим соединениям с предельно допустимой концентрацией (ПДК) в воде 0,001 мг/л (1×10^{-2} мкМ) [1]. Наиболее перспективным методом утилизации фенола является его биодegradация с помощью микроорганизмов. Это обуславливает необходимость поиска микроорганизмов, обладающих фенолдеградирющими свойствами. Известно, что способность использовать низкомолекулярные ароматические соединения (фенол, катехол и др.) широко распространена среди бактерий родов *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и др. [2,3], а также гетеробазидиомицетных дрожжей [4].

Для поиска микроорганизмов, способных утилизировать фенол, использовали пробу почвы из промышленной зоны г. Самара.

Целью работы являлось выделение и исследование окисления фенола иммобилизованными клетками нового изолята на амперометрическом биосенсоре.

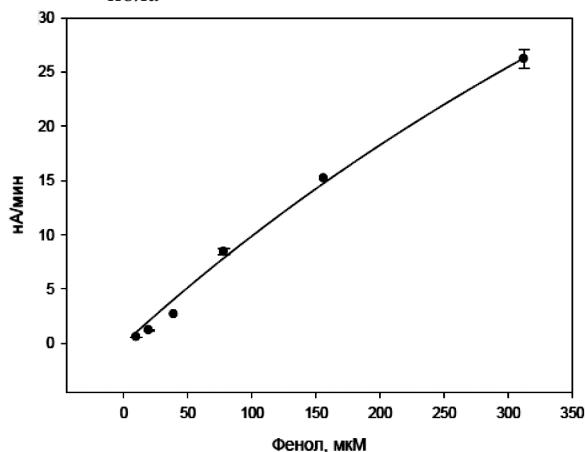
Материалы и методы

Пробу почвы из промышленной зоны г. Самара в количестве 1 г разводили в 10 мл физраствора. Серий-

ные разведения высевали на агаризованную селективную синтетическую среду «Е» следующего состава, г/л: KH_2PO_4 – 8,7; NH_4Cl — 0,535; CaCl_2 –1,11; $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$ — 0,0618; $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ — 0,1197; Na_2SO_4 –0,142; агар (Bacto-agar «Difco», USA) — 5,0; пары фенола. Среду стерилизовали автоклавированием в режиме 0,5 атм в течение 30 минут. Чашки Петри выдерживали в термостате при 28°C в эксикаторе, содержащем фенол до появления колоний. Полученные колонии пересеивали на скошенную агаризованную среду Е и микроскопировали для определения чистоты культуры. Культуру поддерживали на скошенном сусле-агаре.

Для иммобилизации аликвоту клеточной суспензии центрифугировали при 10 000 g в течение 3 мин при комнатной температуре. Клетки отмывали дважды 30 мМ калий-фосфатным буфером, рН 7,4. Иммобилизацию клеток изолята осуществляли методом физической адсорбции. Для этого клеточную суспензию, содержащую 10 мкл калий-фосфатного буферного раствора (30 мМ, рН 7,4) с 1 мг сырой биомассы, наносили на полоску хроматографической стекlobумаги («Whatman GF/A», Великобритания), формируя пятно диаметром 5 мм. Пятно подсушивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Подготовленный био-рецептор на основе иммобилизованных клеток (ИМК)

Рис. 1. Градуировочная зависимость ответов биосенсора на основе иммобилизованных клеток *C. sojae* САВ –1 от концентрации фенола



изолята фиксировали на измерительной поверхности кислородного электрода типа Кларка («Кронас», Россия) с помощью нейлоновой сетки.

Измерения проводили в калий-фосфатном буферном растворе (30 мМ, рН 7,4), насыщенном кислородом, при комнатной температуре в открытой кювете объемом 2 мл с помощью потенциостата IPC-Micro («Кронас», Россия). Регистрируемым параметром являлась максимальная скорость изменения выходного сигнала dI/dt (нА/с), связанная пропорциональной зависимостью со скоростью изменения концентрации потребленного кислорода (ответ биосенсора). Объем пробы субстрата составлял 100 мкл.

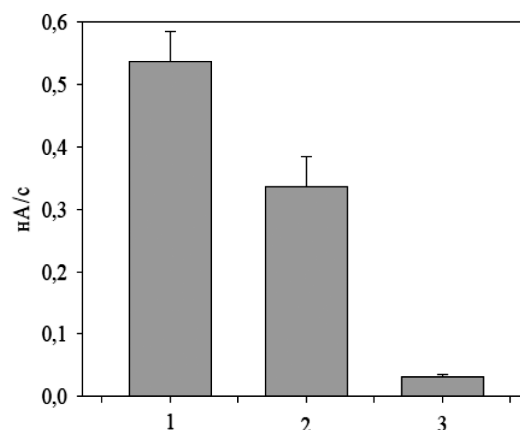
Результаты и обсуждение

Из пробы почвы промзоны г. Самара на агаризованной селективной среде Е с фенолом в качестве единственного источника углерода и энергии выделили штамм, названный САВ–1. При микроскопировании нового изолята наблюдали дрожжеподобные клетки. Большинство видов дрожжей можно идентифицировать на основании секвенирования домена D1/D2 на 5'-конце большой субъединицы (26S) рДНК. Филогенетический анализ нуклеотидной последовательности D1/D2 региона исследуемого штамма САВ–1 показал, что он имеет 100% сходство с видом *Candida sojae* JCM 1644^T. Типовой штамм этого вида впервые выделили в 1994 году в Японии из жидкой фракции водорастворимых веществ обезжиренных соевых хлопьев [5]. Позднее, в 2016 году в Бразилии штамм *C. sojae* GF41 выделили из чешуйчатокрылых насекомых с сахарного тростника [6]. Таким образом, на основании секвенирования новый изолят идентифицирован как представитель известного вида *C. sojae* САВ –1.

Показано, что *C. sojae* САВ –1 способен расти на агаризованной минеральной среде Е с фенолом и не наблюдали рост на жидкой минеральной среде с 0,025% фенола. Хороший рост наблюдали на суло-агаре, глюкозо-картофельном агаре, агаризованной среде 5/5 [7]. Суспензию клеток штамма, выращенного на среде Е в парах фенола, использовали при приготовлении биорецептора.

В условиях эксперимента были использованы не-растущие клетки, для которых следует ожидать ста-

Рис. 2. Субстратная специфичность иммобилизованных клеток *C. sojae* САВ –1 (1- фенол, 2- этанол, 3- глюкоза)



бильные стехиометрические соотношения между количеством потребленного кислорода и фенола. Кинетические константы скорости потребления кислорода и окисления фенола пропорциональны. При использовании штамма *C. sojae* САВ –1 в качестве основы рецепторного элемента, при введении фенола в кювету зарегистрировали ответы биосенсора. Для изучения влияния концентраций фенола на потребление кислорода иммобилизованными клетками *C. sojae* САВ –1 концентрации субстрата варьировали от 9 до 112 мкМ. Градуировочная зависимость ответа биосенсора от концентрации фенола представлена на рис. 1.

Из рис 1 видно, что для всех изученных концентраций скорость окисления фенола росла по мере повышения его концентрации.

Далее проводили оценку субстратной специфичности биорецептора по трем субстратам: фенол, этанол и глюкоза в концентрации 0,5 мМ. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Показано, что иммобилизованные клетки, индуцированные фенолом, способны окислять спирты и на порядок меньше глюкозу, что вероятно связано с перестройкой ферментных систем.

Таким образом, из образца почвы промзоны г. Самара выделили и идентифицировали новый штамм, отнесенный к роду дрожжей *Candida*, способный к окислению фенола. Показано, что штамм *C. sojae* САВ –1 перспективен для применения в биотехнологии, в том числе для создания биофильтров и биосенсоров для разложения и определения фенола.

Список литературы

1. Чернявская М. И., Козлова М. В., Титок М. А. Метаболический потенциал микроорганизмов, выделенных из загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв. // Вестник БГУ. Сер. 2. 2014. № 3.С. 33–37.
2. Gurusamy, A. J. Ruey-Shin, L. Duu-Jong. Microbiological degradation of phenol using mixed liquors of *Pseudomonas putida* and activated sludge // Waste Management. 2001. №22. P. 703–710.
3. Коробов, В.В. Журенко Е.Ю., Жарикова Н.В. [и др.] Возможность использования штамма-деструктора фенола и 2,4-дихлорфенола *Rhodococcus erythropolis*

- 17S, для очистки промышленных стоков // Вест. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2017. Т. 72. №4. С. 235–240.
4. Sampaio. J.P. Utilization of low molecular weight aromatic compounds by heterobasidiomycetous yeasts: taxonomic implications // Can. J. Microbiol. 1999. Vol. 45. P. 491–512.
 5. Nakase T., Suzuki M., Takashima M., Miyawa Y., Kagaya K., Furazawa Y., Komagata K. *Candida sojae*, a new species of yeast isolated from an extraction process of water-soluble substances of defatted soybean flakes // J. Gen. App. Microbiol., 1994. V. 40. P. 161–169.
 6. Borelli G., Jose J., Teixeira P.J.P.L., Santos L.V. De Novo Assembly of *Candida sojae* and *Candida boidinii* Genomes, unexplored xylose-consuming yeasts with potential for renewable biochemical production // Genome Announcements. 2016. V. 4. e01551–15.
 7. Кувичкина Т. Н., Носулич В. Е., Капарулина Е. Н., Доронина Н. В., Макаренко А. А., Решетиллов А. Н. Окисление фенола и катехола иммобилизованными клетками актинобактерий *Rhodococcus gordoniae* LETO // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2019. Вып. 4. С. 28–38.

БИФИДОБАКТЕРИИ И ЛАКТОБАЦИЛЛЫ — ИСТОЧНИКИ АНТИМИКОТИКОВ РАСПОЗНАЮЩЕЙ ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ СЕТИ

Лахтин М.В., Лахтин В.М.

МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского

Бифидобактерии и лактобациллы характеризуются выраженным морфологическим и функциональным полиморфизмом в процессе жизнедеятельности, в зависимости от питательных сред, статуса слизистых как мукозальных органов, особенно в организме матери в связи беременностью, грудничковых детей. Запрограммированный адаптационный потенциал бифидобактерий и лактобацилл отражается на их разнообразии в поведении в мукозальных биотопах, что обеспечивает и поддерживает в ряде случаев их доминирование в микробиоценозах, надзорных межнишевых взаимоотношениях. Бифидобактерии и лактобациллы проявляют антагонизм в отношении грибов, указывая на способность продуцировать антимикотики. Одним из ключевых факторов поддержания здоровья микробиоценозов в организме являются лектиновые системы индигенной микрофлоры [1, 2].

Цель — на основании собственных данных обосновать потенциал бифидобактерий и лактобацилл как источников разнообразия сетевых антимикотиков нового типа.

Результаты. Лектины относятся к белкам и высокомолекулярным пептиды-содержащим веществам, а также их комплексам, способным распознавать и связывать углеводы и гликоконъюгаты (ГК). Нами очищены и охарактеризованы не содержащие оксидоредуктаз лектиновые системы пробиотиков (ЛСП, 27–220 кДа, кислые и щелочные, лактобациллярные и бифидобактериальные: кЛЛ, щЛЛ, кЛБ и щЛБ). Лектины пробиотиков оказались ценным инструментом оценки бифидобактерий и лактобацилл как источников антимикотики-подобных молекул и комплексов. Преимуществами ЛСП в сравнении с метабиотиками являются: а) наличие выраженных распознающих ГК-мишени свойств и возможности их прогнозирования; б) рассмотрение ЛСП в качестве сетевых метаболомбиотиков.

А. Новые распознающие свойства ЛСП. ЛСП (ЛБ и ЛЛ; мажорные [инфраструктурные, базисные для ГК-декора, доставочные, депонирующие] и минорные [сигнальные, источники новых компонентов ЛСП]

субсистемы, в том числе комплексные с ГК) имитируют ключевые активности индигенных бифидобактерий, лактобацилл и их консорциумов в мукозальных органах, опережают в действии пробиотические клетки и их ассоциаты, не зависят от лимитирующих клетки факторов, проявляют широкомасштабный синергизм в антимикотических действиях (с азоловыми и другими классическими антимикотиками, фитолектинами, ГК-содержащими терапевтическими агентами, факторами физиотерапии, другими вариантами стресса).

Б. Сетевые антимикотические ЛСП — метаболомбиотики. Для субсистем ЛСП характерно сетевое взаимодействие: «1 компонент ЛСП—набор ГК», «набор компонентов ЛСП—1 тип ГК». Уже в субцитоагглютинирующих дозах ЛСП реализуют сцепленные с лектиновыми активностями надстроечные действия. Решаемы вопросы выбора направлений дальнейшего развития каскада событий. При взаимодействии ЛСП с молекулами и рецепторами контакты становятся источником модификации/ переключения и/или появления новой специфичности у компонента ЛСП (вектора специфичностей субсистемы ЛСП). В результате адаптационно расширяется спектр мишеней, происходит наведение мишенью субсистем ЛСП на новые мишени с участием новых эффекторных комплексов ЛБ и ЛЛ в надзоре за окружением. Это позволяет сориентировать пробиотические клетки через собственные наборы ЛСП (метаболомбиотиков) на конкретные типы ассоциатных и других организованных форм грибов, воздействуя на них напрямую и через каскады.

Основные результаты. 1. Подтверждены и в ряде случаев конкретизированы сенсорные (суб)видовой направленностью в отношении грибов свойства бифидобактерий и лактобацилл на уровне активностей их ЛСП. Антимикотические активности в отношении массивов и биопленок (БП) кандид у ЛБ и ЛЛ — взаимодополняемы как по времени, так и территориально. 2. ЛСП ведут себя как «мягкие» распознающие ГК антимикотики нового типа (адаптируемые, перенаправляемые в каскадах, с учетом элементов мишени) с ранним и отсроченным действием с использованием нескольких

механизмов, взаимодополняющих и пролонгирующих действие против кандид всех эпидемиологически значимых групп: а) через конверсию в суспензиях (с использованием грибковых гидролаз и запуском механизмов суицида *C. albicans* и *C. tropicalis* (группа I), б) через раннее (1–2 суток) биоритмическое разобщение суспензиальных форм кандид групп I и III (*C. krusei*), в) через сборку БП на поверхностях (*C. albicans*, *S. aureus*), г) через нейтрализацию факторов вирулентности *C. glabrata* (группа II), д) через биоконтроль бактерицидности и фунгицидности общей территории ЛСП и грибов (ограничение БП *C. albicans* с аспергиллами). 3. Перспективны стратегии борьбы с БП-образующими инфекциями, предусматривающие сцепленный с ЛСП одновременный лизис БП патогенов изнутри (стратегии «мишень-в-мишени») и на периферии БП (стратегии сочетанных с антимикробными лекарствами пробиотических атак на БП как целое). Так, в отношении комбинаций «Кандиды+Стафилококки» возможно применение ЛСП как мягких антибиотиков в следующих направлениях: а) против кандид: кЛБ(выраженное действие на периферические области БП)> кЛЛ(выраженное действие на внутренние с повышенной защитой области БП); кЛБ+кЛЛ (остаточная после пробиотической атаки мультиморфная БП доступна лекарствам); ЛБ+ЛЛ+пробиотики (клеточная составляющая обеспечивает глубину резистентности пробиотического микробиоценоза; амплификацию клеток, поддержанную ЛБ и ЛЛ; восполнение ЛСП); б) против стафилококков: кЛЛ(территориально отличающиеся действия от таковых кЛБ в БП)> кЛБ(выраженное действие в периферической части БП, отличающееся от области действия кЛЛ; периферические полностью лизируемые фрагменты БП); кЛЛ+кЛБ (максимальная территория лизиса БП); ЛЛ+ЛБ+пробиотики. щЛПС проявляют отсроченное действие (против *C. albicans*, более позднее в сравнении с действием кЛСП; против внутренних областей БП, захватывающих и центральную — наиболее защищенную область массива

патогена), усиливающееся в условиях стресса. Антимикотическое действие щЛПС поддержано кофункционированием щЛБ и щЛЛ, в первую очередь, с биосурфактантами.

Заключение. Приведенные данные указывают на перспективу сбалансированного для терапии пациента минимизированного микробиоценозного состава бифидобактерий и/или лактобацилл — источников антимикотиков распознающего ГК типа (ЛПС), участвующих в выстраивании единой метаболитно-клеточной антипатогенной сети. Сеть предполагает кофункционирование защитных систем организма; вовлекает кооперацию пре-, про-, син-, иммуно-, пост- и метабитиков, ингридиентов вакцин и функционального питания. В микробиоценозах грудничковых детей антимикотики (ЛБ> ЛЛ), видимо, способствуют масштабированному замещению грибов и бактерий консорциумом бифидобактерий, минимизируя гетерогенность микробиоценоза и повышая консолидацию бифидобактерий в контроле коммуникаций «Микробиоценоз—Слизистая» в результате перехвата надзорных функций грибов. В урогенитальной слизистой антимикотики (ЛЛ> ЛБ) выстраивают устойчивое доминирование консорциума лактобацилл над грибами.

Список литературы

1. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А. Роль и перспективы лектинов микроорганизмов индигенной микрофлоры слизистых в регуляции микробиоценозов слизистых открытых полостей организма // *Проблемы научной мысли*. — 2020. — Vol. 4; № 1. — С. 6–23.
2. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А. Роль лектинов микроорганизмов индигенной микрофлоры слизистых в регуляции микробиоценозов слизистых открытых полостей организма и иммунологического надзора // *Уральский научный вестник*. — 2020. — Vol. 4; № 2. — С. 9–41.

ПЕРСПЕКТИВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS. — CRIV.) VUILL. В УСЛОВИЯХ БИОРЕАКТОРА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Литовка Ю.А.^{1,2}, Павлов И.Н.^{1,2}, Хромогин П.В.¹, Эназаров Р.Х.¹, Петренко С.М.¹

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск

²Сибирский государственный университет науки и технологий им. академика М.Ф. Решетнева, Красноярск

Массовое размножение гусениц *Dendrolimus sibiricus* Tschetv. и инвазийного стволового вредителя *Polygraphus proximus* Blandford являются одним из наиболее значимых факторов, ведущих к массовому усыханию пихтово-кедровых лесов Сибири и последующим катастрофическим пожарам [1]. В настоящее время повреждение темнохвойных лесов в результате действующей вспышки массового размножения сибирского шелкопряда (*D. sibiricus*) достигло площади более 1,4 млн. га; усыхание пихтовых древостоев составляет более 582 тыс. га с потенциальной площадью дальнейшего усыхания до 10 млн га [2]. Одной из причин мас-

совой гибели *Abies sibirica* Ledeb. на территории Сибири является инвазия уссурийского полиграфа (*P. proximus*) [3,4], оказывающего мощное стрессовое воздействие на пихтовые древостои. Эффективным механизмом регуляции и удержания популяции вредителей в зоне депрессии являются аборигенные энтомопатогенные микроорганизмы. Перспективными агентами биоконтроля хвое-грызущих насекомых и стволовых вредителей являются анаморфные аскомицеты, включая представителей рода *Beauveria* [5–7].

Для промышленного производства больших партий биопрепаратов перспективным и высоко техноло-

гичным методом является глубинное периодическое культивирование, однако такой способ получения биоинсектицидов сталкивается с рядом трудностей. В глубинной культуре энтомопатогенные грибы характеризуются полиморфным ростом, аналогичным их ростовым процессам в гемолимфе насекомого; продуктивность и вирулентность глубинных бластоконидий зачастую уступает воздушным конидиям и существенно зависит от условий культивирования [8–11], а сам процесс является достаточно длительным (до 5–6 сут.). В связи с чем для получения энтомопатогенных препаратов с высокими показателями продуктивности бластоконидий, жизнеспособности и вирулентности необходимы исследования, направленные на подбор питательной среды и условий глубинного культивирования продуцента в условиях шейкерной культуры и биореактора.

В качестве основного продуцента биоинсектицида был отобран штамм СШ2–5 *B. bassiana*, выделенный нами ранее из гусениц *D. sibiricus* в очагах их массовой гибели [1]. Видовая идентификация подтверждена секвенированием участков генетических маркеров ITS и TEF-1 α с использованием оборудования ЦКП «Инновационные технологии защиты растений» ВИЗР (Санкт-Петербург–Пушкин). Штамм СШ2–5 обладает высокими ростовыми параметрами и вирулентностью в температурном диапазоне 10–25 °С. Энтомопатогенные свойства доказаны при биотестировании гриба на активных гусеницах *D. sibiricus* и имаго *P. proximus*, 100% гибель которых при инфицировании контактным способом отмечена на 14–16 и 5–7 сут. соответственно [1,2].

Подбор питательной среды осуществляли в термостатируемом орбитальном шейкере BLBIO — OS–2012 (25 \pm 1 °С, 5 сут., 200 об.·мин.⁻¹) на семи питательных средах (№1, среда YSM, модифицированная YSM–1, модифицированная YSM–2, №5, Чапека–Докс, ТК1) [8–11], оценивая продуктивность биомассы, концентрацию редуцирующих веществ и значение pH. Среда отличается источником азотного и углеродного питания, содержанием и соотношением микроэлементов.

Проведенное исследование показало, что модифицированная среда YSM–1 и Чапека–Докс не отвечают питательным потребностям штамма (максимальное накопление биомассы до 0,5 г/л). На средах YSM, YSM–2, №5 и ТК1 продуктивность по биомассе составила от 7,1 до 14,5 г/л на 5 сут. на фоне изменения кислотности среды (подщелачивание на среде № 5; подкисление на средах ТК1, YSM, YSM–2). В целом, максимальный прирост биомассы (до 14,5 г/л) отмечен на среде ТК1 на 5-е сутки при снижении исходной концентрации РВ в 2,8 раза и умеренном подкислении среды (до pH 4,3).

Масштабирование биомассы осуществляли методом периодического глубинного культивирования на среде ТК1 в биореакторе (BIORUS BI B10–30SJ) общим объемом 30 л. Рабочий объем ферментера 15 л; объем инокулята 4%; автоматический контроль температуры и O₂; значение pH — не стерируемое (начальное 5,1; конечное 5,7); стартовая температура 28°С (далее 26°С); частота перемешивания 400 об.·мин.⁻¹; давление 0,005 МПа; пеногаситель — нерафинированное стерильное подсолнечное масло; периодичность отбора проб 4 ч). Общая длительность ферментации составила 105 ч: удельная скорость роста 0,098 г·ч.⁻¹; экономический

коэффициент 0,57; время удвоения генерации 5,4 ч; концентрация биомассы 16,4 г/л; титр бластоконидий 1,1 \times 10⁹ кое·мл⁻¹.

После завершения цикла ферментации культуральную жидкость отделяли от биомассы центрифугированием (ротаторная центрифуга GZX–1; 15 тыс. об./мин.). Биомассу подвергали лиофилизации (лиофильная сушилка Lyopro–0.6: замораживание до –30 °С, 24 ч; высушивание при 5 °С, 12 ч.) и замораживанию при –20°С с криопротектором (глицерин в концентрации 10–30% от объема биомассы) для оценки жизнеспособности биопрепаратов при хранении. Лиофильно высушенные препараты помещали в стерильные герметично закрытые стеклянные емкости и хранили при 4–6 °С; замороженные препараты — в морозильной камере при –20 °С. Жизнеспособность штамма-продуцента после хранения оценивали путем посева ре-суспендированной биомассы на мальт-экстракт агар и культивирования при оптимальной температуре 25 °С. Спустя 6 месяцев хранения жизнеспособность лиофильно высушенных и замороженных препаратов составила 97 и 91% соответственно; спустя 12 месяцев — 92 и 84%. Энтомопатогенную активность оценивали на гусеницах *D. sibiricus* и имаго *P. proximus*. После реактивации вирулентность гриба была высокой и не существенно отличалась от исходного штамма: 100%-ная гибель гусениц *D. sibiricus* отмечена на 16–17 сут., жуков *P. proximus* — на 7–8 сут.

Проведенное исследование позволило подобрать питательную среду ТК1, на которой выход биомассы энтомопатогенного штамма СШ2–5 *B. bassiana* и степень потребления углеводов были максимальны в условиях термостатируемого шейкера (25 \pm 1 °С, 5 сут., 200 об.·мин.⁻¹). Глубинное культивирование в биореакторе в течение 101 ч позволило увеличить концентрацию биомассы до 16,4 г/л с титром бластоконидий 1,1 \times 10⁹ кое·мл⁻¹. Лиофильно высушенные и замороженные с криопротектором препараты сохраняют жизнеспособность и высокую вирулентность в течение 12 месяцев хранения.

Список литературы:

1. Pavlov I.N., Litovka Y.A., Golubev D.V., Astapenko S.A., Chromogin P.V. New outbreak of *Dendrolimus sibiricus* Tschetv. in Siberia (2012–2017): monitoring, modeling and biological control // Contemporary Problems of Ecology. 2018. Т. 11. № 4. С. 406–419.
2. Pavlov I.N., Litovka Y.A., Golubev D.V., Astapenko S.A., Chromogin P.V., Usoltseva Y. V., Makolova P. V., Petrenko S. M. Mass Reproduction of *Polygraphus proximus* Blandford in Fir Forests of Siberia Infected with Root and Stem Pathogens: Monitoring, Patterns, and Biological Control // Contemporary Problems of Ecology. 2020. Vol. 13. № 1. P. 71–84.
3. Керчев И.А. Экология полиграфа уссурийского *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera; Curculionidae, Scolytinae) в Западно-Сибирском регионе инвазии // Российский журнал биологических инвазий. 2014. Т. 7. №. 2. С. 80–95.
4. Кривец С.А., Бисирова Э.М., Керчев И.А., Пац Е.Н., Чернова Н.А. Трансформация таежных экосистем в очаге инвазии полиграфа уссурийского *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) в Западной Сибири // Российский журнал биологических инвазий. 2015. 8 (1). 41–63.

5. Половинко Г.П., Ярославцева О.Н., Тешебаева З.А., Крюков В.Ю. Доминирующие виды энтомофильных анаморфных аскомицетов Западной Сибири, Приморья и Киргизии // Сибирский экологический журнал. 2010. №5. С. 709–716.
6. Керчев И.А., Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Половинко Г.П., Токарев Ю.С., Глупов В.В. Первые сведения о грибных патогенах (*Ascomycota*, *Hypocreales*) в инвазийных популяциях уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. // Российский Журнал Биологических Инвазий. № 4. 2016. С. 41–50.
7. Севницкая Н.Л. Продуктивность и вирулентность энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. при культивировании на разных питательных средах // Труды БГТУ. 2016. № 1. С. 177–181.
8. Mascarin G.M., Jackson M.A., Kobori N.N., Behle R.W., Dunlap C.A., Delalibera Júnior Í. Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects the formation and efficacy of blastospores // Appl Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 99. P. 6653–6665.
9. Lohse R., Jakobs-Schonwandt D. A., Patel V. Screening of liquid media and fermentation of an endophytic *Beauveria bassiana* strain in a bioreactor // AMB Express. 2014. V. 4. P. 47.
10. Chong-Rodríguez M.J., Maldonado-Blanco M. G., Hernández-Escareño J. J. Study of *Beauveria bassiana* growth, blastospore yield, desiccation-tolerance, viability and toxic activity using different liquid media // Afr J. Biotechnol. 2011. V. 10. P. 5736–5742.
11. Pham T.A., Kim J.J., Kim K. Production of blastospore of entomopathogenic *Beauveria bassiana* in a submerged batch culture // Mycobiology. 2009. V. 37. P. 218–224.

УСТОЙЧИВЫЕ К БЕЛОМУ ФОСФОРУ ГРИБЫ

А.З. Миндубаев¹, А.Д. Волошина¹, Э.В. Бабынин², С.Т. Минзанова¹, Е.К. Бадеева¹, Й.А. Акосах²

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Аннотация. Впервые произведены посевы микроорганизмов в синтетические культуральные среды, содержащие белый фосфор в качестве единственного источника фосфора. Показан рост устойчивости культур в результате направленной селекции. Проведен поиск метаболитов белого фосфора. Самая высокая концентрация соответствует превышению ПДК белого фосфора в сточных водах в 5000 раз.

Ключевые слова: биодegradация; детоксикация; белый фосфор; *Aspergillus niger*.

Биодegradация является одним из наиболее важных методов обезвреживания промышленных стоков [1,2].

Целью проведенного нами исследования являлась переработка при помощи микроорганизмов белого фосфора — одного из самых опасных веществ, применяемых в крупнотоннажном химическом производстве [3]. В литературных источниках не найдено сведений о доказанных примерах биологической деградации белого фосфора. Предыдущие работы нашего коллектива [4,5] позволили пролить свет на данный практически неизученный вопрос.

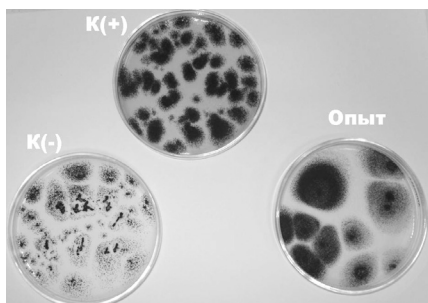
Посевы произвелись в модифицированную среду Придхем-Готлиба. Классическая среда Придхем-Готлиба не содержит источники углерода: в качестве таковых выступают нефтепродукты. Наша модификация включает глюкозу, но не содержит источники фосфора (в качестве такового выступает белый фосфор). Посев *Aspergillus niger*, споры которого были внесены вместе с белым фосфором, производили в среду, содержащую белый фосфор в концентрации 0,01 и 0,05% по массе. В контрольные среды К(+) вносился фосфат. В контрольные среды К(-) источники фосфора не вносились. Второй пересев *A. niger* произведен в среды аналогичного состава, третий — в среды с увеличенной концентрацией белого фосфора: 0,05, 0,1 и 0,2% по массе. Чет-

вертый пересев проводился в среды с концентрацией белого фосфора 0,1, 0,5 и 1% по массе.

На пятые сутки переселили культуру *A. niger*, выросшую при 0,05% белого фосфора, в контрольные среды К(+) и К(-). В среде К(+) с фосфатом выросло значительное число сравнительно мелких колоний: это означает, что большинство спор проросло, что естественно в благоприятных условиях. В среде К(-) без источников фосфора колонии практически не росли, а сразу перешли к спороношению. По всей видимости, сказались нехватка фосфора. Известно, что растения и микроорганизмы в природных условиях часто испытывают фосфорное голодание, и вырабатывают к нему ряд адаптаций. Причем, согласно [6], микроорганизмы выдерживают более жесткий дефицит фосфора, что и наблюдалось нами. Любопытно, что в среде с 0,05% белого фосфора колоний выросло меньше, чем в К(+), однако они имеют нормальный размер, то есть не испытывают дефицит питательных веществ. Отсюда следует вывод, что в среде с белым фосфором выживают не все споры гриба, но выжившие обладают способностью использовать в качестве источника фосфора либо сам белый фосфор, либо продукты его химических превращений.

Четвертый пересев аспергилла был произведен через 112 суток после первого посева. Концентрацию белого фосфора в среде увеличили до 0,5 и 1% по массе. При внесении столь большого количества P_4 густой черный осадок в средах выпадает моментально. Среда издает сильный специфический запах белого фосфора даже спустя несколько суток после посева. Через сутки рост посеянных микроорганизмов еще не наблюдался. Через четверо суток в среде с содержанием белого фосфора 0,5% наблюдался рост мелких колоний аспергилла на стадии субстратного мицелия (то есть рост сильно замедлен). В средах с 1% белого фосфора через четверо

Рисунок 1 — Первый пересев устойчивых грибов *A. niger*. K(+) — среда с фосфатом: наблюдался рост 49 крупных колоний *A. niger*. K(-) — среда без источника фосфора: на ней наблюдался рост 33 колоний, отстающих в росте. Опыт — среда с 0,05% белого фосфора: наблюдался рост 11 крупных колоний *A. niger*. Чашки сфотографированы через шесть суток после посева



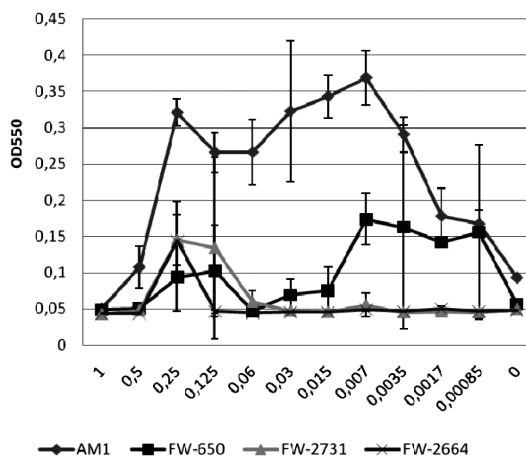
суток после посева рост не наблюдался. Грибы развиваются очень медленно. По-видимому, данные концентрации белого фосфора близки к предельным, при которых еще возможен рост грибов. На восьмые сутки на поверхности колоний аспергилла наблюдается россыпь спор, т. е. гриб сохранил способность к размножению! Следует отметить, что по [7], концентрация белого фосфора 1% это превышение ПДК в сточных водах в 5000 раз!

На 27 суток после шестого посева *A. niger* наблюдается начало роста гриба в среде с 1% белого фосфора. В предыдущих посевах максимальная концентрация белого фосфора, при которой рос аспергилл, составляла 0,5%.

Для генетической идентификации гриба, метаболизирующего белый фосфор и отнесенного к виду *Aspergillus niger*, была определена нуклеотидная последовательность его регионов ITS1 и ITS2. Сравнение полученной последовательности с последовательностями описанных штаммов *Aspergillus niger* NJA-1 (Acc. KJ365316.1) и KAML02 (KC119204.1) из базы данных GenBank с помощью системы BLAST, позволяет идентифицировать данный микроорганизм, как новый штамм *A. niger*. Ему мы присвоили номер *A. niger* AM1. Нуклеотидная последовательность штамма опубликована в базе данных GenBank, где ей присвоен номер KT805426.

Для сравнения устойчивости к белому фосфору нескольких культур черного аспергилла, применялся наш штамм *Aspergillus niger* AM1, а также три штамма

Рисунок 2 — Сравнение роста четырех штаммов *A. niger* в присутствии белого фосфора. На оси абсцисс указаны концентрации P_4 в %. Заметно, что штамм AM1 намного более устойчив к белому фосфору по сравнению со штаммами из ВКМ



из Всероссийской коллекции микроорганизмов при ИБФМ им. Г.К. Скрыбина: FW-650, FW-2664 и FW-2731, выделенные из арктических вечномерзлых грунтов (Таглу (Канада), многолетнемерзлые отложения, возраст — 170 лет, глубина 20,50–20,55 м; Камчатка (Россия), пепел вулканический мерзлый, глубина 1.8–1.85 м; Камчатка (Россия), мерзлота, вулканический пепел, глубина 14.5 м соответственно). Культуры высевались в планшеты Corning, скорость роста оценивалась микропланшетным ридером Infinite F200 Pro, Tecan (Австрия) по интенсивности поглощения света λ 550 нм. Максимальная концентрация белого фосфора достигала 1%. Для сравнения высевались культуры бактерий *Achromobacter xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus firmus* и *Salmonella typhimurium*. Целью данных исследований являлось обнаружение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) белого фосфора для перечисленных микроорганизмов.

Оказалось, что все четыре штамма *A. niger* выдерживают концентрацию белого фосфора 1%. МИК для них так и не была найдена. По-видимому, высокая устойчивость к белому фосфору — признак, характеризующий все черные аспергиллы, или большинство из них. Тем не менее, в широком диапазоне концентраций штамм AM1 рос быстрее, т. е. оказался намного более устойчивым (рис. 2). Для бактерий МИК была найдена и составила для *A. xylosoxidans* 0,125%, *B. firmus* 0,25%, *Pseudomonas aeruginosa* и *S. typhimurium* 0,5%. Из этого следует вывод, что черные аспергиллы более устойчивы к белому фосфору по сравнению с бактериями [5].

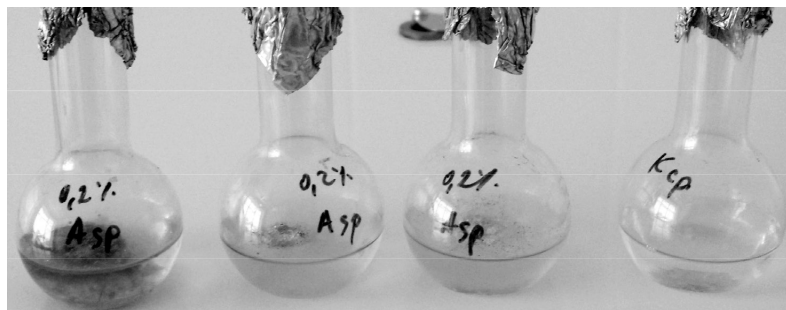


Рисунок 3 — Крайняя справа колба — стерильная среда. Крайняя слева — культура аспергилла, отличающаяся от прочих усиленным ростом. Обращает на себя внимание необычно яркая окраска этой культуры. Две колбы в центре — предковая культура.

Очень интересно спонтанное появление в среде с белым фосфором культуры *A. niger* AM2 с измененной морфологией и окраской, быстрее растущей в среде с исследуемым ксенобиотиком по сравнению с предковым штаммом (рис. 3). Возможно, это результат мутации и дальнейший этап адаптации микроорганизма к среде, содержащей белый фосфор. А судя по тому, что штамм эффективнее набирал биомассу в среде с белым фосфором, эта мутация повышает его приспособленность к существованию в данной среде [8].

Поскольку в литературе отсутствуют сведения о микроорганизмах, устойчивых к белому фосфору, представленная работа имеет бесспорную новизну.

Список литературы

1. Миндубаев А.З. Кто съел полиэтилен? // Наука и жизнь. — 2018. — № 4. — С. 32–38.
2. Meckenstock R.U., Elsner M., Griebler C., Lueders T., Stumpp C., Aamand J., et al. Biodegradation: Updating the Concepts of Control for Microbial Cleanup in Contaminated Aquifers // Environ. Sci. Technol. — 2015. — Vol. 49. — No. 12. — P. 7073–7081.
3. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Пискунов Д.Б., Махиянов А.Н., Минзанова С.Т., и соавт. Генотоксичность и цитогенетическое действие белого фосфора // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. — 2019. — Т. 9. — №1. — С. 81–94.
4. Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Хаяров Х.Р., Минзанова С.Т., и соавт. Микробиологическая деградация белого фосфора // Экология и промышленность России. — 2018. — Т. 22. — № 1. — С. 33–37.
5. Mindubaev A.Z., Babynin E.V., Voloshina A.D., Saparmyradov K.A., Akosah Y.A., Badeeva E.K., et al. The possibility of neutralizing white phosphorus using microbial cultures // News of NAS RK. Series of geology and technical sciences. — 2019. — Vol. 5. — No. 437. — P. 122–128.
6. Kulakovskaya T. Phosphorus storage in Microorganisms: Diversity and Evolutionary Insight // Biochem Physiol. — 2015. — Vol. 4. — No 1. — e130, — P. 1–4.
7. Barber J.C. Patent US5549878.
8. Миндубаев А.З., Кузнецова С.В., Евтюгин В.Г., Даминова А.Г., Григорьева Т.В., Романова Ю.Д., и соавт. Влияние белого фосфора на выживаемость, протеом и клеточную морфологию *Aspergillus niger* // Прикладная биохимия и микробиология. — 2020, — Т. 56. — №.2. — С. 156–164.

АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ БИОПРЕПАРАТА «РЕМЕДОЙЛ» НА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫЕ ПОЧВЫ

Н.Н. Минина

Башкирский государственный университет, Бирск

Естественное разложение нефти и нефтепродуктов в обычных условиях происходит медленно, т. к. повышенные концентрации углеводов подавляют самоочищающую активность почвы и воды. В итоге в экосистеме накапливаются трудноокисляемые химические продукты, препятствующие самоочищению и самовосстановлению (Стабникова Е.В., Рева О.Н., Иванов В.Н., 1995). Процесс естественного самовосстановления загрязненной среды является длительным. При уровне загрязнения 5 г/кг почвы он длится от 2 до 30 лет (Технология..., 2003).

Согласно официальным данным, в настоящее время в России нуждаются в рекультивации более 1,2 млн. га земель, пострадавших от различного типа углеводородных загрязнений (Технология..., 2003). Загрязнение углеводородами нефти вызывает необратимые изменения свойств почвы. При загрязнении техногенными углеводородами в почвах в первую очередь изменяются морфологические свойства — окраска и сложение. Стирание черт естественного профиля сопровождается появлением интенсивного черного или бурого цвета, образованием битуминозной корки на поверхности, уплотнением сложения. Это неизбежно вызывает снижение либо утрату почвенного плодородия, приводит к изменению экологических функций почв, сопровождающихся снижением биоразнообразия. Углеводороды нефти образуют в процессе трансформации токсич-

ные соединения, обладающие канцерогенными, тератогенными и мутагенными свойствами, стойкостью к микробиологическому расщеплению и способностью переходить в растения, что снижает качество возделываемых культур и создает угрозу для здоровья человека и животных (Велихов Э.Х., 1996).

В настоящее время для очистки загрязнений нефтепродуктами перспективной является биоремедиация (bio — жизнь, remedio — лечение) — очищение природной среды при помощи биологических методов. Например, стимуляция аборигенной микрофлоры путем внесения удобрений в загрязненную экосистему или внесение специализированных препаратов МО, созданных для очистки загрязненных экосистем (Мурыгина В.П., Аринбасаров М.У., Каложный С.В., 1999).

Ранее предполагалось, что МО, способные разлагать и использовать углеводороды нефти и нефтепродуктов, встречаются только там, где расположены нефтепромыслы, нефтехранилища или нефтепроводы, однако, МО-нефтедеструкторы распространены в природе довольно широко и могут быть выделены из почвы, осадочных пород, морской и речной воды. Эти гетеротрофные МО могут усваивать разнообразные органические соединения — углеводы, белки, жиры и пр.

МО-нефтедеструкторы способны эффективно окислять углеводороды нефти с длиной цепи C9–C30

и ароматические углеводороды в широком диапазоне кислотности среды (рН 4,5–9,5) и температур (5–45 °С). Эффективность окисления углеводородов достигает 99%. В результате биологической обработки нефтяного загрязнения биопрепаратами в окружающей среде остаются легко разлагающийся бактериальный белок, не требующий последующей утилизации, и нетоксичные продукты разложения нефти. Продукты жизнедеятельности бактерий и сами отмирающие бактерии легко усваиваются аборигенной микрофлорой, давая основу для формирования гумуса (при использовании препарата для очистки почвы) или образуя донный ил (в случае применения на воде). Степень очистки зависит от исходной величины загрязнения, химической природы нефтепродуктов, механического состава грунтов.

Для биодеструкции нефтезагрязненных почв нами был предложен биопрепарат «Ремедойл», представляющий собой консорциум дрожжевых грибов аборигенной флоры. Компоненты биопрепарата выращивали в стерильных условиях на специальных селективных средах в чашках Петри.

Готовили жидкую ростовую среду. При комнатной температуре наработка засеваемого материала производилась при постоянном перемешивании и контроле роста на денситометре Den-1 в течение 7–10 сут. Минимальная концентрация клеток в получаемом маточном растворе должна составлять $(4-6) \times 10^6$ /мл.

Для адаптации клеток к утилизации углеводородов нефти проводили культивирование при интенсивной аэрации микрокомпрессорами (расход воздуха не менее 2 л/мин).

Для исследования активности препарата «Ремедойл» использовали нефтешлам, который в начале был проанализирован.

Нефтешлам представляет собой многокомпонентную смесь веществ различной природы (асфальтены, смолы, углеводороды, спирты и сложные эфиры — диоктилфталаты, механические примеси, тяжелые металлы — Свинец, Марганец, Хром, Железо, Алюминий, Медь, Ванадий).

Для идентификации состава органической части нефтешлама проводили хроматографирование с помощью газового хроматомакс-спектрометра GCMS-QP2010S Ultra фирмы Shimadzu (колонка RestekRtx-5MS, 30 m x 0.25 mmID, 0.25 μ mdf, газ-носитель — гелий, энергия ионизации 70 эВ) в растворителе гексане.

Биодеструктор «Ремедойл» представляет собой консорциум дрожжеподобных микроорганизмов, обладающий уникальной способностью вовлекать в процессы метаболизма и перерабатывать нефть, нефтепродукты, а также жирные кислоты с различной длиной углеводородной цепи.

Определение общего содержания нефтепродуктов проводилось согласно «Методике выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органогенных, органо-минеральных почвах и донных отложениях методом ИК-спектрометрии. ПНД Ф 16.1:2.2.22–98» (Ляшенко О.А., 2012).

По результатам исследований, отмечено значительное снижение концентрации нефтепродуктов в исследуемых образцах. Особенно активное разложение нефтепродуктов происходит в первые 30 суток действия препарата при средних уровнях загрязнения почвы — от 20 до 40%, в данных условиях наблюдается максимальное снижение концентрации нефтепродуктов — до 36,2–44,9% исходной. При более высоких показателях загрязнения почвы снижение концентрации нефтепродуктов составляет 48,3–58,6% от исходной концентрации (Natalia N. Minina, 2019).

За 8 месяцев биоремедиации при действии биодеструктора «Ремедойл» отмечается значительное снижение количества нефтепродуктов. Особенно эффективно действие данного препарата при 10–20% загрязнении почвы нефтешламом — остаточное количество нефтепродуктов составляет 4–5% исходной. При 30–50% загрязнении почвы остаточное загрязнение колеблется в пределах 13–16% от исходного загрязнения. При более высоких степенях загрязнения почвы нефтешламом также отмечается значительное действие биодеструктора — загрязнение снижается в 3–4 раза (составляет 22–31% исходной концентрации).

Таким образом, предлагаемый нами биопрепарат «Ремедойл» является эффективным для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

Список литературы

1. Стабникова Е.В., Рева О.Н., Иванов В.Н. Выбор активного микроорганизма — деструктора углеводородов для очистки нефтезагрязненных почв // Прикладная биохимия и микробиология. 1995. Т. 31. №5. С. 534–539.
2. Технология восстановления почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Справочник. М.: РЭ-ФИА. НИА. Природа. 2003. С. 258.
3. Велихов Э.Х. Охрана окружающей среды на нефтедобывающих объектах в современных условиях // Нефтяное хозяйство. 1996. №10. С. 47.
4. Логинова О.О., Данг Т.Т., Белоусова Е.В., Шалимова С.С., Шевченко М.Ю., Грабович М.Ю. Биодеструкция нефтепродуктов в почве штаммами микроорганизмов рода *Acinetobacter*. Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегиональный сборник научных работ. Воронеж. 2010. Вып. 12. С. 129–136.
5. Мурыгина В.П., Аринбасаров М.У., Калужный С.В. Очистка водной поверхности и грунтов от нефтяных загрязнений биопрепаратом «Роден» // Экология и промышленность России. 1999. №8. С. 16–19.
6. Natalia N. Minina, Analysis of phytotesting of soils polluted by petroleum products after bioremediation // Journal of Agriculture and Environment — № 3(11) (2019). (<http://jae.cifra.science/issue/view/21>)
7. Ляшенко О.А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды: учебное пособие / СПб ГТУРП. СПб, 2012. 67 с.

УЛУЧШЕНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ 2 ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* С ПОМОЩЬЮ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА

Немашкалов В.А.¹, Беккаревич А.О.¹, Бубнова Т.В.¹, Матыс В.Ю.¹, Рожкова А.М.², Сеницын А.П.²

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

²ФИЦ Биотехнологии, Москва

В настоящее время использование ферментных препаратов в качестве кормовой добавки является ключевым условием эффективного животноводства (Ravindran V. et al.), главным образом, свиней и птицы. Основой комбикормов для сельскохозяйственных животных являются злаковые культуры, такие как овес, рожь, пшеница, ячмень и другие, клеточная стенка которых содержит в своем составе трудно расщепляемые некрахмальные полисахариды (НПС) (Осипов Д.О., Рожкова А.М., Матыс В.Ю. и соавт.). НПС обладают, так называемыми, антипитательными свойствами, что приводит к уменьшению скорости прохождения корма по пищеварительному тракту, снижению его переваримости и эффективности всасывания питательных веществ. Добавление ферментных препаратов в корма сельскохозяйственных животных позволит снизить вязкость кормов и повысить их усвояемость, как следствие, ускорится рост молодняка и улучшится физиологическое состояние животных (Яровенко В.Л., Калунянц К.А., Голгер Л.И.).

Ключевыми ферментами, используемыми в качестве кормовой добавки для расщепления растворимых НПС, являются грибные β -глюканазы, в число которых входят эндо-1,4- β -глюканазы (ЭГ2). Таким образом, целью данной работы является улучшение физико-химических свойств эндоглюканазы 2 промышленного грибного продуцента ферментов *Penicillium verruculosum*.

Структура ЭГ2 была решена методом рентгеноструктурного анализа. Сначала данный фермент был выделен из *P. verruculosum* и закристаллизован методом диффузии паров в висячей капле. Структура фермента в комплексе с целлобиозой была определена методом молекулярного замещения и уточнена до $R_{\text{cryst}}=22.6\%$ и $R_{\text{free}}=27.3\%$ при разрешении 1.85 Å. Полученная модель удовлетворяет всем стереохимическим и рентгено-

структурным критериям. Координаты модели депонированы в банк белковых структур (PDB код 5L9C).

На основании полученной структуры были спланированы точечные аминокислотные замены: W183A, D213A, S215A, направленные на снижение ингибирования работы фермента продуктом реакции — целлобиозой (рисунок).

Методом ПЦР с использованием геномной ДНК *P. verruculosum* в качестве матрицы был амплифицирован ген целевого фермента ЭГ2, содержащий необходимые мутации. Эти фрагменты далее были клонированы в шаттл-вектор, разработанный в Институте биохимии им. А.Н. Баха ранее. Далее полученные плазмиды были трансформированы в компетентные клетки *E. coli* для наработки ДНК.

На следующем этапе была проведена трансформация лабораторного штамма-реципиента *P. canescens*, что позволило получить рекомбинантные штаммы, продуценты мутантных форм ЭГ2. Мутантные формы фермента были выделены, и проанализированы их биохимические свойства.

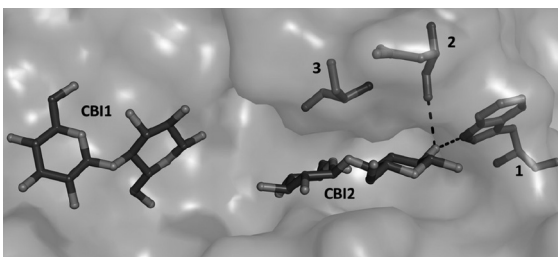
Установлено, что pH- и T-оптимумы активности по β -глюкану не меняются или меняются незначительно. Некоторые из осуществленных мутаций привели к увеличению каталитической активности ЭГ2 по специфическим субстратам β -глюкану и карбоксиметилцеллюлозе (КМЦ). Для исследования осаживающей способности мутантных и немутантных форм ЭГ2 был проведен гидролиз измельченной осиновой древесины. Выход глюкозы в случае использования некоторых мутантных форм ЭГ2 был выше по сравнению с немутантной ЭГ2 до 30%.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № № 18-74-10103).

Список литературы

1. Ravindran V. Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities // J. Appl. Poult. Res. 2013. V. 22. № 3. P. 628.
2. Осипов Д.О., Рожкова А.М., Матыс В.Ю. и др. Получение биокатализаторов на основе рекомбинантных штаммов-продуцентов гетерологичной ксиланазы в грибе *Penicillium verruculosum*. Применение их в гидролизе отходов лесной и деревообрабатывающей промышленности // Катализ в промышленности. — 2010. — № 5. — С. 64.
3. Яровенко В.Л., Калунянц К.А., Голгер Л.И. Производство ферментных препаратов из грибов и бактерий // Пищевая промышленность. — 1969. — С. 26.

Рисунок — Предполагаемые аминокислотные остатки для проведения сайт-направленного мутагенеза (1 — W183F (Trp-Phe), 2 — D213A (Asp-Ala), 3 — S215A (Ser-Ala)). Пунктирная линия — водородные связи



ИЗМЕНЕНИЕ БИОСИНТЕЗА ПОЛИАМИНОВ У ВЫСОКОАКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С, ШТАММА *ACREMONIUM CHRYSOGENUM* ВКМ F-4081D

Нураева Г.К.¹, Январев Д.В.², Хомутов М.А.², Жгун А.А.

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт Биотехнологии, Москва

²Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Мицелиальный гриб *Acremonium chrysogenum* — эксклюзивный промышленный продуцент цефалоспориноидов (цефС), одной из важнейших субстанций для производства антибиотиков цефалоспоринового ряда. Все высокоактивные продуценты цефС получены в результате применения классических методов случайного мутагенеза и селекции для улучшения штаммов дикого типа. Высокоактивный продуцент *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D (штамм НУ) получили на основе *A. chrysogenum* ATCC 11550 (штамм НУ) [1,2], при этом выход цефС увеличили более, чем в 100 раз [2,3]. Ранее мы показали, что добавление экзогенных полиаминов, таких как спермидин или 1,3-диаминопропан (ДАП), может приводить к повышению продукции цефС у *A. chrysogenum* НУ [4], что может иметь важное биотехнологическое значение при промышленном производстве. Добавление полиаминов также сопровождалось апрегуляцией генов биосинтетических кластеров бета-лактамов и *laeA*, глобального регулятора вторичного метаболизма (ВМ) грибов [4].

В настоящей работе мы сконцентрировали усилия на изучении эндогенного метаболизма полиаминов в штаммах *A. chrysogenum* WT и НУ. Для этого провели серию сравнительных экспериментов при культивировании штаммов на агаризованной и жидких питательных средах. Оказалось, что *A. chrysogenum* НУ проявляет повышенную устойчивость к ингибиторам орнитин-декарбоксилазы (ODC), ключевого фермента биосинтеза путресцина. Это эффект продемонстрировали методом разведения капель в агаре на среде Чапека-Докса против двух ингибиторов этого фермента: α-дифторметилорнитина (ДФМО) и 1-аминоокси-3-аминопропана (АРА) в диапазоне концентраций, от 0.25 до 10 мМ. Наряду с этим, штамм *A. chrysogenum* НУ продемонстрировал повышенную чувствительность к ингибиторам аргинин-декарбоксилазы (ADC), фермента альтернативного пути биосинтеза путресцина (через образование агматина). Вещества DL-α-дифторметиларгинин (ДФМА) и 1-аминоокси-3-гуанидинопропан (АО-Агм, аминокси-агматин) ингибировали рост колоний штамма *A. chrysogenum* НУ сильнее, чем *A. chrysogenum* WT. Эффект ингибирования ODC практически полностью снимался одновременным добавлением к среде с ингибитором 0.5 мМ полиаминов (спермидина или путресцина). Ингибирование активности ADC значительно хуже снималось добавлением полиаминов; такой эффект ранее продемонстрировали у других мицелиальных грибов [5,6].

Для того чтобы объяснить выявленный феномен разностной чувствительности штаммов *A. chrysogenum* WT и НУ к ингибиторам биосинтеза путресцина, у обоих штаммов определили содержание полиаминов в процессе глубинного культивирования как на синтетической среде Чапека-Докса, так и на ферментационной среде, оптимизированной для продукции цефС. На обеих питательных средах показали, что основным полиамином в штаммах *A. chrysogenum* является спер-

мидин, содержание спермина не превышает 20–30% от количества спермидина; также в следовых количествах детектируется путресцин. Важным результатом явилось значительное увеличение как общее количество полиаминов, так и содержания спермидина и спермина у высокоактивного штамма НУ. Так, на среде Чапека-Докса, у *A. chrysogenum* НУ количество полиаминов увеличено в 3–5 раз в процессе культивирования.

Повышение содержания полиаминов у высокоактивного продуцента цефС может быть связано со значительной резистентностью этого штамма к ингибиторам ODC. Работа этого фермента осуществляет основной вклад в биосинтез полиаминов, через образование путресцина. Изменение содержания полиаминов у высокоактивного продуцента могло быть побочным явлением при получении этого штамма методами рендомного мутагенеза, поскольку их повышенное содержание способствует как радиорезистентности [7], так и устойчивости к окислительным повреждениям [8], возникающим в процессе классического улучшения штамма. Полученные результаты важны для дальнейшего изучения феномена повышения продукции целевых ВМ при экзогенном введении полиаминов. Это особенно актуально в силу того, что такая стимуляция не уникальна и продемонстрирована на ряде других улучшенных штаммов мицелиальных грибов, например, на продуценте ловастатина, штамме *Aspergillus terreus* 43–16 [9,10].

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 19-04-01173

Список литературы

- Zhgun A.A. et al. Genetic transformation of the mycelium fungi *Acremonium chrysogenum* // Appl. Biochem. Microbiol. 2008. Vol. 44, № 6. P. 600–607.
- Патент RU2426793 C12P35/06, C07D501/02, C12R1/75. Способ биосинтеза цефалоспориноидов С с использованием нового штамма *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D. 2011.
- Dumina M. V et al. Comparative gene expression profiling reveals key changes in expression levels of cephalosporin C biosynthesis and transport genes between low and high-producing strains of *Acremonium chrysogenum*. // World J. Microbiol. Biotechnol. 2014. Vol. 30, № 11. P. 2933–2941.
- Жгун А.А., Калинин С.Г., Новак М.И., Домрачева А.Г., Петухов Д.В., Джавахия В.В., Эльдаров М.А. Б.Ю.Э. Влияние полиаминов на биосинтез антибиотика цефалоспориноидов С в штаммах *Acremonium chrysogenum* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. Vol. 14, № 3. P. 47–54.
- Pieckenstein F.L. et al. The effect of polyamine biosynthesis inhibition on growth and differentiation of the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. // Antonie Van Leeuwenhoek. 2001. Vol. 80, № 3–4. P. 245–253.

6. Valdés-Santiago L. et al. Polyamine Metabolism in Fungi with Emphasis on Phytopathogenic Species // *J. Amino Acids*. 2012. Vol. 2012. P. 1–13.
7. Lee C.-Y. et al. Promotion of homology-directed DNA repair by polyamines // *Nat. Commun. Nature Publishing Group*, 2019. Vol. 10, № 1. P. 65.
8. Murray Stewart T. et al. Polyamine catabolism and oxidative damage. // *J. Biol. Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 2018. Vol. 293, № 48. P. 18736–18745.
9. Zhgun A.A. et al. 1,3-Diaminopropane and spermidine upregulate lovastatin production and expression of lovastatin biosynthetic genes in *Aspergillus terreus* via *LaeA* regulation // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2019. Vol. 55, № 3. P. 244–255.
10. Zhgun A.A., Nuraeva G.K., Eldarov M.. The Role of *LaeA* and *LovE* Regulators in Lovastatin Biosynthesis with Exogenous Polyamines in *Aspergillus terreus* // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2019. Vol. 55, № 6. P. 626–635.

ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОКСИКАРБОНОВОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ШУЛЬТЫ

Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенок Л.В.

Научно-исследовательский институт биологии «ИГУ»

Широко известен трутовик чага, который представляет собой бесплодную (стерильную) форму трутовика скошенного *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil. Чага развивается на стволах живых берез в виде неправильных желвакообразных наростов, достигающих 5–40 см в диаметре.

На березах развивается и другой гриб, очень редкий и чрезвычайно полезный. Это шультя или шультя.

Он образуется на месте морозобоин, поселившийся на скопившемся в образовавшейся полости соке, и представленный в виде черно-бурых листовидных, тонких, длинных, сморщенных пластинок, как бы обранных при этом в кипы. Пластины — источник растворимого в воде черно-коричневого пигмента. Шультя обладает общеукрепляющими, тонизирующими свойствами, ее используют при умственном и физическом переутомлении. Шультю считают средством, продлевающим жизнь, и пьют ее с этими целями вместо чая (Телятьев, 1985).

При растворении шульты в горячей воде (70–80°C) остается небольшой аморфный осадок угольного цвета. Вкус водорастворимой шульты нейтральный. При микроскопировании иногда видны фрагменты мицелия гриба и одиночные темноокрашенные дрожжи. При посеве на питательные среды: сусло-агар и агаризованную среду Чапека выделено два вида грибов: *Trichoderma pseudokoningi* Rifai и пигментированный мицелий базидиомицета.

Биодеградация древесины березы с образованием растворимого черного пигмента происходит из-за действия базидиомицета и *T. pseudokoningi*. Основная часть шульты (растворимый черный пигмент) представляет собой полифенолоксикарбонный комплекс — это весьма перспективное вещество для лечения различных заболеваний. Высокая концентрация

черного пигмента в шульте позволяет использовать водно-спиртовую экстракцию для извлечения меланина с последующим осаждением его в холодильной камере и центрифугированием.

Для определения морфологии и химического состава применялись методы сканирующей электронной микроскопии вместе с рентгеноспектральным микрозондовым анализом. Использовался сканирующий электронный микроскоп LEO430VP, снабженный энерго-дисперсионным (ЕДХ) спектрометром OXFORD. Количественный химический анализ проводился с использованием программы INKA.

На электронно-микроскопических снимках шультя имеет неоднородное строение примесных элементов органической матрицы. В органической матрице обнаружены такие элементы, как Mg, P, K и Ca. В шульте также обнаружен и марганец (Mn). Марганец имеет особое значение при нормализации функции половых желез и опорно-двигательного аппарата. Считается, этот микроэлемент может оказывать профилактическое действие в отношении недостаточности венозных артерий сердца, диабета, патологии щитовидной железы, нарушении углеводного и липидного обмена. Достаточная концентрация Mn в шульте — одна из составляющих биологической активности редкого природного вещества.

Природный полифенолоксикарбонный комплекс шульты (меланин), насыщенный марганцем является редким перспективным комплексом для БАД.

Список литературы

1. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири — Иркутск: В. — Сиб. книжное изд-во, 1985. — 384с.

ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫЕ ГРИБЫ КАК ПРОДУЦЕНТЫ НОВЫХ ПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ, ПРЕОДОЛЕВАЮЩИХ АНТИМИКРОБНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ: ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ПОИСКУ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Садыкова В.С., Куварина А.Е., Гаврюшина И.А., Георгиева М.Л., Кулько А.Б., Рогожин Е.А.
Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

Антимикробные пептиды (АМП) были и остаются одним из важнейших источников новых эффективных соединений за счет широкого спектра действия в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий и грибов, низкой токсичности и отсутствия формирования резистентности. На сегодняшний день все зарегистрированные природные и синтетические АМП собраны в различных базах данных, например, в хранилище данных антимикробных пептидов (DRAMP), которое содержит более 4500 последовательностей.

Новые противогрибковые синтетические пептиды активно внедряет Novabiotics: NP213 -циклический гептамер на основе аргинина с фунгицидной активностью. В качестве активного ингредиента Novexatin® он был составлен в виде кисти для лечения грибковых инфекций ногтей (онихомикоз). Фазы I и II а клинических исследований показали, что NP213 является безопасным, хорошо переносимым и эффективным. Также разрабатывается препарат Novamycin (NP339), новый противогрибковый пептид для лечения аспергиллеза, кандидоза и криптококкоза.

Во всем мире серьезную угрозу здоровью населения представляют также бактериальные инфекционные заболевания, микроорганизмы-возбудители которых способны к образованию биопленок, являющиеся одновременно фактором патогенности и резистентности бактерий. Инфекции, при которых образуются биопленки, с трудом поддаются лечению, поскольку обладают высокой устойчивостью ко многим антибиотикам и антимикробным препаратам, применяемым в клинической медицине, а также способностью преодолевать защитные механизмы макроорганизмов. В последнее время активно разрабатываются новые подходы к выявлению и изучению биопленок, меняется тактика антибиотикотерапии, а также ведется поиск новых антибиотиков, ингибиторов межклеточной сигнализации, ферментов и других методов разрушения уже сформировавшихся биопленок.

Одним из первых пептидов, обладающих антибиопленочной активностью, был кателицидин человека LL-37. Примечательно, что данный пептид практически не обладает ингибирующей активностью против планктонных бактерий, но проявляет специфическое антибиопленочное действие. Был проведен ряд исследований, показавших, что обработка стафилококков антимикробными тромбцитарными пептидами способствует изменению их физико-химических свойств (гидрофилизация поверхности и повышение электрокинетического потенциала) и снижению биопленкообразования.

АМП грибного происхождения являются одними из важнейших, активно изучаемых источников новых эффективных антибиотиков. Им свойственны широкий спектр действия в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов, и, как правило, низкая токсичность, отсутствие формирования резистентности. При этом они облада-

ют способностью ингибировать рост микроорганизмов, во многих случаях посредством механизмов, отличных от большинства традиционных антибиотиков [1].

Среди этой группы наибольший интерес представляют пептаиболы (липопептаиболы, липоаминопептаиболы, липоаминопептиды), как соединения с антибиотическими свойствами, — семейство мембранно-активных пептидных антибиотиков, содержащие ряд нестандартных аминокислотных остатков (в частности, альфа-аминоизомаслянную кислоту), без дисульфидных связей, имеющие преимущественно спиральную конформацию (при интеграции в мембрану) и содержащие диалкиламинокислоты и аминоспирты. Эти пептиды являются вторичными метаболитами, образуются в стадии идиофазы, когда прекращается активный рост гриба, или при создании специфических условий культивирования — добавлении предшественников. Интерес к ним резко возрос в последнее время в связи с перспективами использования для разработки лекарственных препаратов нового поколения. Они рассматриваются в качестве молекул-кандидатов, с помощью которых можно преодолеть устойчивость к антибиотикам у патогенных микроорганизмов, оболочечных вирусов и раковых клеток. К настоящему времени известны около 40 пептаиболов, выделенных из грибов различных систематических групп, обладающих противогрибковой активностью в отношении патогенных, условно патогенных и фитопатогенных мицелиальных и дрожжевых грибов.

Грибы рода *Emericellopsis* известны как продуценты антимикробных пептидов группы пептаиболов с антибактериальной активностью. Новый вид алкалофильного гриба *Emericellopsis alkalina* был впервые описан в 2013 г, изоляты которого были выделены из содовых солончаков Кулундинской степи и Забайкалья. Проведенный скрининг различных изолятов данного вида на способность к синтезу антибиотических веществ, позволил выявить перспективный с биотехнологической точки зрения штамм ВКПМ F-1428, характеризующийся уникальным комплексом пептидов с антимикробной активностью в отношении грибов и бактерий.

Штамм продуцирует комплекс пептаиболов, обладающий противогрибковой активностью *in vitro* в отношении клинических изолятов патогенных видов дрожжей и грибов — возбудителей аспергиллеза и кандидоза у больных туберкулезом и СПИД [2,3]. Основным компонентом комплекса антибиотиков является новый липопептид — эмерициллипсин А, обладающий разнонаправленным спектром антимикробного действия. В соответствии с ЯМП-спектрами эмерициллипсин А представляет собой линейный полипептид, с 2-метилдекановой кислотой (2MDA) на N-конце и N-(2-гидроксиэтил)-1,2-пропандиамина на C-конце. Пептид образует альфа-спираль и содержит 8 карбонильных групп. Из 7 аминокислотных остатков два представлены аланином и изолейцином, а

остальные — 3-метилпропионом (ЗМП), 2-амино-4-метил-6-гидрокси-8-оксодекановой кислотой (АНМОД), 2-аминоизобутиратом (АИБ), изовалином и β-аланином. ЯМР-спектры показывают молекулярную формулу $C_{54}H_{99}N_9O_{11}$ с изотопной молекулярной массой 1049,746. Эмерициллипин А является типичным представителем липоаминопептидов [3,4].

Фунгицидная активность выражается в неспецифическом действии на эукариотические патогенные дрожжевые и мицелиальные виды грибов, обладающие высоким уровнем резистентности к традиционным противогрибковым препаратам. Помимо этого, эмерициллипин А ингибирует формирование биопленок клинических изолятов *S. aureus* [4,5].

In vitro анализы эмерициллипина А показали селективную цитотоксическую активность против клеточных линий HepG2 и Hela, при этом эмерициллипин А менее токсичен для нормальных клеток, чем применяемый в клинике доксирубицин. Полученные данные по гемолитической активности позволяют заключить, что для исследуемого соединения — эмерициллипина А — свойственен низкий уровень гемолитической активности с отсутствием дозо-зависимого эффекта.

Также были начаты исследования антифунгальной активности двух его гомологов — эмерициллипинов В и С и особенностей их биосинтеза в разных биотехнологических системах [4,5].

Раздел исследования по культивированию штамма *E. alkalina* выполнен при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19–34–90088, раздел по выделению эмерициллипина А для оценки антимикробной активности выполнен при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18–74–10073).

Список литературы

1. Fan L., Sun J., Zhou M., Zhou J., Lao X., Zheng H., Xu H. DRAMP: A comprehensive data repository of antimicrobial peptides // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6, № 24482.
2. Садыкова В.С., Гаврюшина И.А., Куварина А.Е., Маркелова Н.Н., Седых Н.Г., Георгиева М.Л., Барашкова А.С., Рогожин Е.А. Антимикробная активность липопептида — Эмерициллипина А, выделенного из *Emericellopsis alkalina*, в отношении биопленкообразующих бактерий // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2020. Т. 56, № 3. С. 1–7.
3. Садыкова В.С., Рогожин Е.А., Баранова А.А., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н., Васильченко А.С. Штамм *Emericellopsis alkalina* Bilanenko & Georgieva — продуцент антибиотиков — пептаиболов с антигрибной и антибактериальной активностью. Патент РФ № 2704421 от 06.05.2019.
4. Рогожин Е.А., Садыкова В. С., Гаврюшина И.А., Габрия Р.А., Куварина А.Е., Барашкова А.С., Георгиева М.Л. Биотехнология получения нерибосомальных пептидных антибиотиков грибного происхождения // *Актуальная биотехнология.* 2019 Т. 30, № 3. С. 430–431.
5. Садыкова В. С., Гаврюшина И.А., Куварина А.Е., Георгиева М.Л., Н.Г. Седых, Н.Н. Маркелова, Барашкова А.С., Рогожин Е.А. Антимикробная активность липопептида — эмерициллипина А, выделенного из *Emericellopsis alkalina*, в отношении биопленкообразующих бактерий // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2020. Т. 56, №3, С. 1–4.

СИНТЕЗ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ГЛИКОЗИЛ-ГИДРОЛАЗ ХИТОЗАН-ДЕГРАДИРУЮЩИМ ШТАММОМ *PENICILLIUM* SP. IB–37–2A И ЕГО ПОТЕНЦИАЛ В БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО И ХИТИН-СОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Сафина В.Р., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Мелентьев А.И., Актуганов Г.Э.
Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН

Микробная конверсия растительного сырья различного происхождения является важным направлением комплексной переработки продуктов и отходов сельского хозяйства, а также лесоперерабатывающей промышленности, имеющей целью улучшение качества жизни, рациональное использование природных ресурсов, энергосбережение и защиту окружающей среды. Основные аспекты применения микроорганизмов и их ферментов для этих целей связаны с обогащением и улучшением качества кормов, получением микробного белка (протеинизация сырья и др.), пробиотиков для животноводства, средств биологической защиты растений, а также биогаза и других видов биотоплива [1, 2]. Мицелиальные грибы представляют собой перспективный объект для широкого использования в переработке и трансформации растительного сырья. Вместе с тем, в последнее время особое значение приобретает необходимость разработки на основе одного или нескольких штаммов микроорганизмов многофунк-

циональных микробных препаратов, имеющих расширенный спектр областей применения [3]. В контексте данного вопроса нами была изучена возможность одновременного применения мицелиального гриба *Penicillium* sp. IB–37–2A для биоконверсии растительного и хитин-содержащего сырья. Хитин, в отличие от целлюлозы, является в основном полимером животного и грибного происхождения, занимая второе место по объему ежегодной мировой продукции. Проблема переработки панцирь-содержащего сырья креветок и крабов и других хитин-содержащих отходов рыболовной промышленности в настоящее время стоит не менее остро, при этом хитин представляет собой ценное сырье для получения продуктов высокой добавленной стоимости [4]. Другими потенциальными источниками хитина являются отработанная мицелиальная биомасса грибов, используемых в биотехнологической промышленности, отработанные грибные блоки промышленно культивируемых съедобных грибов (*Pleurotus*

ostreatus, *Agaricus campestris* и др.), пчелиный подмор, куколки тутового шелкопряда и др.

Цель настоящей работы состояла в оценке спектра и уровня секреции внеклеточных гликозидаз, продуцируемых хитозанолитическим штаммом гриба *Penicillium* sp. IB-37-2A при его глубинном культивировании в присутствии растительного сырья (пшеничная солома), а также в изучении влияния некоторых хитин-содержащих субстратов на его рост и синтез хитинолитических ферментов.

В работе использовали штамм *Penicillium* sp. IB-37-2A из коллекции Уфимского института биологии УФИЦ РАН, депонированный в ВКМ под номером F-4780. Для оценки синтеза хитинолитических ферментов грибом в присутствии различных субстратов в качестве источника углерода использовали порошок крабовый хитин, N-ацетил-D-глюкозамин, D-глюкозамин, измельченные плодовые тела гриба *Lentinus edodes*, хитин подмора пчел местного происхождения. Выделение и очистку хитина из подмора пчел проводили по методу, описанному ранее [5]. Активность хитиназы и других карбогидраз гриба определяли в соответствии с методами, описанными в работах [6, 7].

Штамм *Penicillium* sp. IB-37-2A был ранее выделен при pH 4 и 37°C как доминирующий грибной изолят с высокой хитозан-деградирующей активностью на питательном агаре с 0,5% растворимого хитозана (СД 85%). На основе оценки макро- и микроскопических особенностей данный изолят был отнесен к роду *Penicillium*. Филогенетический анализ областей ITS1 и ITS2 рПНК (574 п.о.) показал максимальную гомологию (99%) этого штамма к видам клады *P. janthinellum* [7]. Секвенированная последовательность депонирована в базе данных GenBank под номером KY681453.1 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucco.re/1150764008>).

Первоначальная оценка ферментативной активности *Penicillium* sp. IB-37-2A в присутствии 2% коллоидного хитина выявила различия в биосинтезе им хитиназы и хитозаназы, в зависимости от pH и степени

аэрации питательной среды. Значительная продукция хитинолитических ферментов наблюдалась только при интенсивной аэрации среды, при этом секреция хитиназа была более высокой при слабых значениях pH среды (pH 4), а хитозаназа — при pH близких к нейтральным (табл. 1).

В той же среде при pH 6, к 5 суткам культивирования в условиях аэрации, гриб показывал высокую N-ацетилглюкозаминидазную активность (>10 тыс. ед./мл), а также в заметном количестве продуцировал β -1,3-глюканазу (ламинариназу, $2,57 \pm 0,08$ ед./мл) и β -маннаназу ($0,40 \pm 0,01$ ед./мл). КМЦ-азная активность у штамма в присутствии коллоидного хитина не выявлялась. При длительном стационарном культивировании (10–14 сут.) в присутствии пшеничной соломы как основного источника углерода (pH среды, 26 °C), у *Penicillium* sp. IB-37-2a существенно возрастал синтез ферментов, участвующих в деградации гемицеллюлоз. Так, в условиях, близких к твердофазному культивированию, при 4-кратном повышении концентрации субстрата, активность β -1,4-ксиланазы возросла почти в 3 раза, β -1,3-1,4-глюканазы — в 5,5 раз, β -1,3-глюканазы — в 2,6 раз (табл. 2).

Использование пшеничной соломы не оказывало существенного влияния на синтез β -маннаназы и целлюлазы исследуемым грибом. Секреция N-ацетилглюкозаминидазы снижалась 10-кратно по сравнению с хитин-содержащей средой, однако существенно превышала продукцию хитиназы и хитозаназы (>0,050 ед./мл), что указывает на конститутивную природу этого фермента. Штамм *Penicillium* sp. IB-37-2a не обнаруживал существенной целлюлазной активности, в т.ч. при культивировании в присутствии аморфной целлюлозы, что указывает на особенности его специализации в отношении гемицеллюлозных и хитиновых субстратов. У гриба не выявлялась также амилолитическая активность в средах с пшеничными или овсяными отрубями (5% масс.).

Нами было испытано несколько хитин-содержащих субстратов (5 г/л) для оценки их влияния

Таблица 1 — Продукция внеклеточной хитиназы и хитозаназы грибом *Penicillium* sp. IB-37-2A в стационарной и аэрируемой культуре после 120 ч культивирования при различном pH питательной среды

Начальное pH питательной среды	Хитиназа, ед/мл		Хитозаназа, ед/мл	
	Стационарная культура	Перемешивание (160 об ⁻¹)	Стационарная культура	Перемешивание (160 об ⁻¹)
pH 4	Нет активности	0,624±0,023	0,125±0,003	0,570±0,030
pH 5	–	0,317±0,046	–	0,638±0,010
pH 6	–	0,101±0,004	0,006±0,001	0,849±0,017

Таблица 2 — Продукция внеклеточных гликозидаз в стационарной культуре *Penicillium* sp. IB-37-2A (14 сут., 26 °C) при различной концентрации основного источника углерода

Продуцируемый фермент (ед/мл)	Содержание пшеничной соломы в среде	
	1% масс.	4% масс.
N-ацетил- β -D-глюкозаминидаза	894,89±15,07	1065,34±30,14
β -1,3-1,4-глюканаза	0,973±0,023	5,334±0,236
β -1,4-ксиланаза	48,53±0,76	138,00±4,71
β -1,3-глюканаза	1,450±0,025	3,778±0,063
КМЦ-аза (β -1,4-глюканаза)	0,056±0,001	0,078±0,004
β -маннаназа	0,399±0,031	0,470±0,022

на рост и продукцию хитинолитических ферментов *Penicillium* sp. IB-37-2a. Наиболее высокий выход мицелиальной биомассы отмечался в присутствии порошкового крабового хитина — 4,5 г с.в./л, измельченного панциря креветок — 4,74 г с.в./л, а также очищенного хитина из подмора пчел — 3,88 г с.в./л. При использовании грибных субстратов (измельченные плодовые тела шиитаке, биомасса *Aspergillus niger*) выход сухого мицелия штамма снижался и был сравним с таковым в присутствии хитозана и D-глюкозамина — около 3,02 г с.в./л. Однако, наибольший уровень продукции хитозаназы наблюдался только в присутствии растворимого хитозана и коллоидного хитина (~1,20 и 0,95 ед/мл, соответственно). Синтез хитозаназы грибом при включении в питательную среду плодовых тел *Lentinus edodes*, хитина из пчелиного подмора и D-глюкозамина составлял в каждом случае не более 30–35% от наблюдаемого максимального уровня. В то же время, хитинолитическая активность *Penicillium* sp. IB-37-2a в присутствии этих субстратов (за исключением D-глюкозамина), а также панциря креветок, достигала более значительных показателей (0,25–0,40 ед/мл) по сравнению с хитозан-содержащей средой (0,06–0,10 ед/мл).

Полученные результаты свидетельствуют о способности *Penicillium* sp. IB-37-2a к одновременной конверсии гемицеллюлозо- и хитин-содержащего сырья и демонстрируют его значительный потенциал для биотехнологического получения ряда гликозил-гидролаз.

Список литературы

1. Hnain A.K., Cockburn L.M., Lefebvre D.D. Microbiological processes for waste conversion to bioenergy

- products: approaches and directions // Environ. Rev. 2011. V. 19. P. 214–237. DOI: 10.1139/a11-007
2. Биоконверсия отходов агропромышленного комплекса. Под ред. В.Ю. Барштейна. Новосибирск, Изд. АНС «СибАК», 2016. — 88 с.
 3. Титова Ю.А., Краснобаева И.Л. Мультиконверсионные биопрепараты для защиты растений и возможности их использования в органическом земледелии // Технологии и технические средства механизированного производства продукции растениеводства и животноводства. 2019. №2(99). С 164–183.
 4. Wang S.-L., Liang T.-W., Yen Y.-H. Bioconversion of chitin-containing wastes for the production of enzymes and bioactive materials. Review // Carbohydr. Polymers. 2011. V. 84, No. 2. P. 732–742. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.06.022
 5. Немцев С.В., Зуева О.Ю., Хисматуллин Р.Г., Албулов А.И., Варламов В.П. Получение хитина и хитозана из медоносных пчел // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. Т. 40, № 1. С. 46–50.
 6. Melentiev A.I., Galimzianova N.F., Gilvanova E.A., Schelchkova E.A., Kuzmina L.Yu., Boyko T.F. et al. Characterization of novel alkaliphilic isolate of *Bacillus mannanilyticus*, strain IB-OR17, displaying chitinolytic and antifungal activities // Advances in Microbiology. 2014. V. 4, No. 8. P. 455–464.
 7. Aktuganov G.E., Galimzianova N.F., Gilvanova E.A., Pudova E.A., Kuzmina L.Yu., Melentiev A.I. et al. Purification and characterization of exo- β -1,4-glucosaminidase produced by chitosan-degrading fungus, *Penicillium* sp. IB-37-2A // World J. Microbiol. Biotechnol. 2019. V. 35, No. 2: 18. P. 1–13. DOI: 10.007/s11274-019-2590-4.

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ФИТО-ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЯХ РАЗНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ РЕГИОНОВ НА ПРИМЕРЕ ФРАНЦИИ И ТАИЛАНДА

Сайнчук А.Д., Александрова А.В., Харитонов С.Л., Щеголькова Н.М.
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

На сегодняшний день тема загрязнения окружающей среды, в частности вод, становится все более актуальной [1,2,3]. Рост населения стимулирует развитие производственных технологий и сельского хозяйства, соответственно увеличивается антропогенная нагрузка: количество и спектр загрязнителей расширяется [4]. В связи с этим актуальна разработка эффективных методов очистки вод [2,3,5].

Новым и относительно неизученным является метод фито-очистки, который позволяет экологично утилизировать загрязняющие соединения, параллельно решая проблему озеленения [6]. В сравнении с обычными системами, фито-очистные сооружения (ФОС) довольно эффективны в утилизации загрязнителей антропогенного происхождения, просты и относительно недороги в использовании [7]. ФОС — это искусственная интегрированная в природный ландшафт система, эффективно выполняющая функции водоочистных сооружений. Принцип работы ФОС основан на жи-

вучивании сообществ растений и микроорганизмов прикорневой и водной зоны. Технически система представляет собой заполненный блоками фильтрующего материала котлован, дно которого выстлано водонепроницаемым материалом. Блоки в пределах системы чередуются по структуре для смены аэробных и анаэробных условий [8], чтобы создать и поддерживать гетерогенность микробиологических сообществ [7]. В качестве фильтрующего материала используют гравий, песок, почву, торф или комбинации этих материалов. В зависимости от схемы подачи воды выделяют ФОС: с открытой водной поверхностью; с горизонтальным подповерхностным потоком; с вертикальным подповерхностным потоком; комбинированные. Также в ФОС могут быть использованы разные типы растительности [8].

Роль бактерий в фито-очистке активно изучается [8], в то время как значение микроскопических грибов на сегодняшний день практически не исследовано.

Цель работы — определить спектр и встречаемость видов культивируемых микромицетов в разных зонах фито-очистных сооружений удаленных географических регионов.

В работе были использованы образцы из ФОС, расположенных в зоне тропического и умеренного климата. Они представляли собой осадок вод на входе в сооружение и на выходе из сооружения, прикорневую почву, осадки со дна, песок, до обработки хранились в замороженном состоянии.

В Таиланде образцы забирали из различных установок ФОС открытого типа, которые были засажены растениями Канна (*Canna* sp.) или Рогоз (*Typha* sp.) и из небольшого пруда, с разными растениями для контроля диких, базовых групп микроорганизмов, всего 13 проб.

Во Франции образцы отбирали в двух очистных комплексах из районов Версиа и Сен-Дезер. Данные ФОС спроектированы с применением смешанной технологии предочистки, в такой системе последовательно располагается фильтр первичной механической очистки и 2 стадии фито-очистки, всего 11 проб. Все исследованные ФОС были засажены растением Канна.

Почвенный посев из образцов выполнили методом выделения на твердые питательные среды из серийных разведений по стандартной методике [9]. Проводили подсчет общего числа колониеобразующих единиц (КОЕ) и количества различных морфотипов колоний в каждом образце. Выделяли чистые культуры, для идентификации использовали общепринятые определители. Наименования видов и систематическое положение дано по базам данных: Мусо Bank (<http://www.mycobank.org>) и Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>).

Представленность видов оценивали по показателям относительного обилия видов. В качестве показателя разнообразия видов в работе был использован индекс разнообразия Шеннона. Для получения наглядной картины сравнения состава микромицетов из разных субстратов и местообитаний был использован метод ординации, который позволяет расположить комплексы видов микромицетов из каждого образца вдоль некоторых гипотетических осей, опираясь на данные видового состава и представленности. Для этой цели был проведен анализ методом главных компонент в программе PCO3.

Анализ образцов из ФОС Таиланда, показал присутствие культивируемых микроскопических грибов во всех пробах. Было выявлено 45 видов микромицетов. Их количество в каждом конкретном образце варьировало от 7 до 15. Индекс разнообразия Шеннона изменялся в пределах 1,09–2,24, что говорит о достаточно высоком разнообразии и сравнимо с таковыми показателями для почв.

Преобладали следующие виды:

Aspergillus aculeatus Iizuka,
A. terreus Thom,
Curvularia lunata (Wakker) Boedijn,
Furcaterigmium furcatum (Moreau et. V. Moreau ex W. Gams) Giraldo López & Crous,
Penicillium miczynskii K.W. Zaleski,
P. ochrochloron Biourge,
Talaromyces aculeatus (Raper et. Fennell) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et. Seifert,

Trichoderma harzianum Rifai,

T. reesei E.G. Simmons.

Для сравнения и оценки гетерогенности комплексов видов культивируемых микромицетов, выделенных из каждого отдельного образца была проведена ординация, методом главных компонент с использованием меры отличия Брея-Куртиса в программе PCO3. Согласно анализу видового состава отдельных образцов из ФОС Таиланда они распадаются на две группы. Ведущим фактором, влияющим на состав микроскопических грибов, здесь является состав растительности (Канна или *Typha*).

Уникальными для ФОС с Канна стали *Aspergillus terreus* и *A. carneus*.

Уникальными для ФОС с Рогозом стали *Penicillium sclerotigenum*, *Sarocladium kiliense*, *Talaromyces purpureogenus* и *Alternaria botrytis*. Особо следует отметить присутствие и высокое обилие видов, способных не только развиваться на растительных остатках, но и вызывать заболевания растений. Для микромицета *Penicillium ochrochloron* показана способность разрушать полициклические углеводороды [10].

Анализ образцов из ФОС Франции, показал присутствие культивируемых микроскопических грибов во всех пробах. Было выявлено 53 вида микромицетов. Их количество в каждом конкретном образце варьировало от 6 до 16. Индекс разнообразия Шеннона изменялся в пределах 1,70–2,55, что говорит о достаточно высоком разнообразии и сравнимо с таковыми показателями для почв.

Наиболее представленные виды:

Acremonium sp.,
Arthrimum arundinis (Corda) Dyko et. B. Sutton,
Aspergillus tubingensis Mosseray,
Aureobasidium pullulans (de Bary et. Löwenthal) G. Arnaud,
Fusarium roseum Link, *F. solani* (Mart.) Sacc.,
Penicillium expansum Link,
Trichocladium griseum (Traaen) X. Wei Wang et. Houbraken,
Trichoderma asperellum Samuels, Lieckf. et. Nirenberg,
Trichoderma harzianum Rifai.

Единично — *Penicillium roqueforti* Thom — вид, используемый в приготовлении сыров.

При анализе комплексов микромицетов из образцов из ФОС Франции закономерности в группировке выявлено не было, вероятно потому, что все они были с одинаковым составом растительного компонента. Среди выделенных микромицетов высоко обилие фитопатогенных грибов из рода *Fusarium* и видов разрушающих растительные субстраты (*Trichocladium* и *Trichoderma*).

Видовой состав на ФОС Таиланда и Франции существенно отличался по характеру доминирующих видов, несмотря на отличия, есть и общие виды:

Acremonium murorum (Corda) W. Gams,
Arthrimum arundinis (Corda) Dyko et. B. Sutton,
Aspergillus fumigatus Fresen.,
Aureobasidium pullulans (de Bary et. Löwenthal) G. Arnaud,
Furcaterigmium furcatum (Moreau et. V. Moreau ex W. Gams) Giraldo López et. Crous,
Fusarium solani (Mart.) Sacc.,

Penicillium chrysogenum Thom,
Purpureocillium lilacinum (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones et. Samson,
Trichoderma harzianum Rifai.

Среди идентифицированных видов ФОС были выявлены патогены растений: для Таиланда — виды рода *Curvularia* и *Alternaria* для Франции — *Fusarium*.

Проведен анализ видового состава культивируемых микроскопических грибов в разных зонах фитоочистных сооружений, расположенных в разных природных зонах с тропическим климатом (Таиланд) и умеренным климатом (Франция). В результате показано, что микроскопические грибы очень разнообразны и обильны в данных типах местообитаний и, вероятно, играют существенную роль в функционировании искусственных экосистем ФОС.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-29-25027мк.

Работа была поддержана грантом МГУ им. М.В. Ломоносова для поддержки ведущих научных школ МГУ «Депозитарий живых систем Московского университета» в рамках Программы развития МГУ.

Список литературы

- Singh M., Gupta A. Water Pollution-Sources, Effects And Control // Pointer Publishers Jaipur. 2016.
- Родин А. А., Дугов Ю. С. Мониторинг органических загрязнений природной среды. 500 методик. Практическое руководство. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний 2014.—896 с.
- Димакова Н. А., Шарапов Р. В. Проблема загрязнения подземных вод // Современные наукоемкие технологии. 2013. №2. С. 79–82.
- Хлопянов А. Г., Пенчуков В. М., Есаулко А. Н., Шутко А. П., Лысенко И. О. Экологические проблемы сельского хозяйства Ставропольского края // Вестник АПК Ставрополья. 2015. №52. С. 14–20.
- Herrero J. L., Lozano J., Santos J. P., Suárez J. I. On-line classification of pollutants in water using wireless portable electronic noses // Chemosphere. 2016. Vol. 152. P. 107–116.
- Tiyasha S., Bhagat S. Phyto-Filtration: A New Approach of Waste Water Treatment // International Journal of Engineering and Innovative Technology. 2013. Vol. 3(2). P. 447–453.
- Рыбка К. Ю., Щеголькова Н. М., Алмашин Д. С., Скрипчинский А. К. Использование фито-очистных систем для очистки от ксенобиотиков в климатических условиях России // Вода: химия и экология. 2015а. №7. С. 32–42.
- Рыбка К. Ю., Щеголькова Н. М., Алмашин Д. С., Скрипчинский А. К. Фито-системы для очистки сточных вод: современное решение экологических проблем // Наилучшие доступные технологии водоснабжения и водоотведения. 2015б. №2. С. 50–59.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Звягинцев Д.Г. М.: Изд-во МГУ. 1991: 304 с.
- Saraswathy, A., Hallberg, R. Mycelial pellet formation by *Penicillium ochrochloron* species due to exposure to pyrene // Microbiological research. 2005. Vol. 160(4). P. 375–383.

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДУКЦИИ ВИНКА-АЛКАЛОИДОВ В ЭНДОФИТНЫХ ГРИБАХ РАСТЕНИЙ РОДА *VINCA*

Шахмуров Н.А., Насметова С.М., Едгорова Н.Т., Гулямова Т.Г.
Институт Микробиологии АН РУз, Ташкент

Винка — алкалоиды, винкрестин и винбластин представляют собой противораковые соединения, внесенные в список жизненно важных лекарственных средств. Винка-алкалоиды получают из растений барвинка методами тканевой культуры, культуры клеток, культур проростков, полусинтетическим методом и полным химическим синтезом. Однако, поскольку их производство довольно ограничено и не удовлетворяет современным потребностям, актуальным является поиск более эффективных источников этих соединений. Альтернативой растительным источникам винка-алкалоидов являются эндофитные грибы, ассоциированные с растениями рода *Vinca*. Действительно, было показано, что эндофитные грибы *Fusarium oxysporum* и *Alternaria sp.*, выделенный из *Catharantus roseus*, способны продуцировать винбластин (1).

Нами при исследовании цитотоксических свойств эндофитов 3-х видов барвинка, произрастающих в Узбекистане, было выделено 17 изолятов эндофитных грибов (2). В экстрактах биомассы отдельных штаммах выделенных эндофитов были обнаружены

соединения, соответствующие винкрестину и винбластину по подвижности при ТСХ и времени выхода при ВЭЖХ.

Для изучения характера продукции винка-алкалоидов в эндофитах была проведена серия экспериментов по подбору подходящих питательных сред, способствующих повышению уровня продукции этих соединений.

Штаммы растили глубинным культивированием на качалке на трех различных по составу питательных средах состава (г/л): 1) 20 г глюкозы, по 2 г кукурузного экстракта, пептона, K_2HPO_4 и $MgSO_4$, 0,2 г дрожжевого экстракта; 2) 50 г маннита, 5,4 г янтарной кислоты, 1 г K_2HPO_4 , 0,3 г $MgSO_4 \times 7H_2O$, pH 5,2; 3) Чапека-Докса. Алкалоиды экстрагировали этилацетатом из культуральной жидкости и биомассы 20-ти суточных культур. Полученные экстракты анализировали методами ТСХ и ВЭЖХ.

В результате проведенных работ было установлено, что из 13-ти исследованных микромицетов наиболее высокое содержание исследуемых алкалоидов наблюдается в культуральной жидкости изолятов *VR176L*

и VR179L, выделенных из *V. rosea*, продуцирующие 0,25 мг/л винкрестина и 2,6 мг/л винбластина, соответственно, при ферментации на питательной среде Чапека-Докса. Следует отметить, что при изучении биосинтеза винкрестина и винбластина в эндофитном грибе *Botryosphaeria laricina*, выделенном из *Catharanthus roseus*, было установлено, что содержание алкалоидов составляло 0,6 мг/л винкрестина и 0,7 мг/л винбластина (3). Как показали наши данные уровень продукции винбластина в выделенном нами эндофитном изоляте VR179L значительно выше, чем представленные в литературе данные.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что подбор подходящих питательных сред может способствовать значительному повышению уровня винка-алкалоидов в эндофитах барвинка.

Список литературы

1. Meenakshi Koul, Neha S. Lakra, Ramesh Chandra and Sheela Chandra. *Catharanthus roseus* and prospects of its endophytes: a new avenue for production of bioactive metabolites. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2013; Vol. 4(7): 2705–2716.
2. L. I. Abdulmyanova, D. M. Ruzieva, R. S. Sattarova and T. G. Gulyamova. Vinca alkaloids Produced by Endophytic Fungi Isolated from Vinca plants. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Volume 7 (2018).
3. C.J. Bandara, A. Siriwardhana, D. N. Karunaratne et al. Production of Vincristine and Vinblastine by the Endophytic Fungus *Botryosphaeria laricina* Strain (CRS1) is Dependent on Stimulating Factors Present in *Catharanthus roseus* The Natural Products Journal. Vol. 7 (2020).

СЕЛЕКЦИЯ КАРОТИНОИДНЫХ ДРОЖЖЕЙ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКОВО-ВИТАМИННЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ ДЛЯ КОРМОПРОИЗВОДСТВА

Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Фурсова Н.А., Волкова Г.С., Серба Е.М.
ВНИИПБТ — филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва

В современных биотехнологических процессах, основанных на использовании микроорганизмов — продуцентов белковых и биологически активных веществ, применяют дрожжи, мицелиальные грибы, бактерии и микроскопические водоросли [1].

Дрожжи являются наилучшими микроорганизмами-продуцентами белковых и биологически активных веществ (БАВ). Их преимущество заключается, прежде всего, в безопасности и «технологичности», поскольку дрожжи, без особых сложностей, можно культивировать в промышленных условиях и без нарушения экологии [2,3]. Дрожжи характеризуются высокой скоростью роста, устойчивостью к посторонней микрофлоре, способны усваивать многие источники питания, легко отделяются от культуральной жидкости, не загрязняют воздух спорами. Клетки дрожжей содержат до 25% сухих веществ. Наиболее ценный компонент дрожжевой биомассы — белок, который по составу аминокислот превосходит белок зерна злаковых культур и, лишь немного, уступает белкам животного происхождения [4]. Биологическая ценность дрожжевого белка определя-

ется наличием значительного количества незаменимых аминокислот. По содержанию витаминов дрожжи превосходят все белковые корма. Кроме того, дрожжевые клетки содержат микро- и макроэлементы и значительное количество жира, в котором преобладают ненасыщенные жирные кислоты [5].

Каротиноидные дрожжи способны синтезировать широкий спектр каротиноидов, обладают способностью в процессе ферментации накапливать достаточное количество биомассы. В области современной биотехнологии данная группа микроорганизмов представляет большой интерес как источник получения белково-витаминных ингредиентов для кормопроизводства [6–10].

Поэтому, цель данного исследования состояла в отборе штамма дрожжей перспективного в отношении синтеза белка и каротиноидов.

Объектами исследований в данной работе служили штаммы дрожжей — продуценты белковых веществ и каротиноидов, полученные из различных коллекций микроорганизмов: *Rhodospiridium* species СК 111,

Рисунок 1 — Накопление биомассы штаммами каротиноидных дрожжей

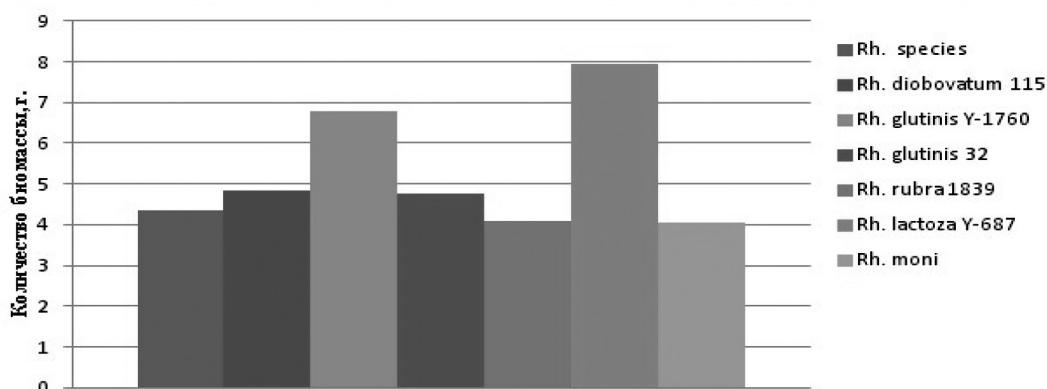


Рисунок 2 — Содержание остаточных углеводов после культивирования

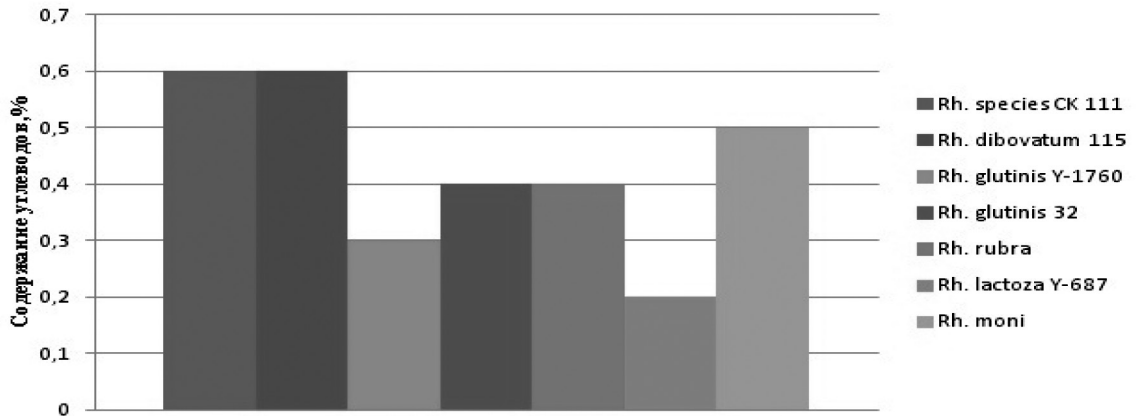
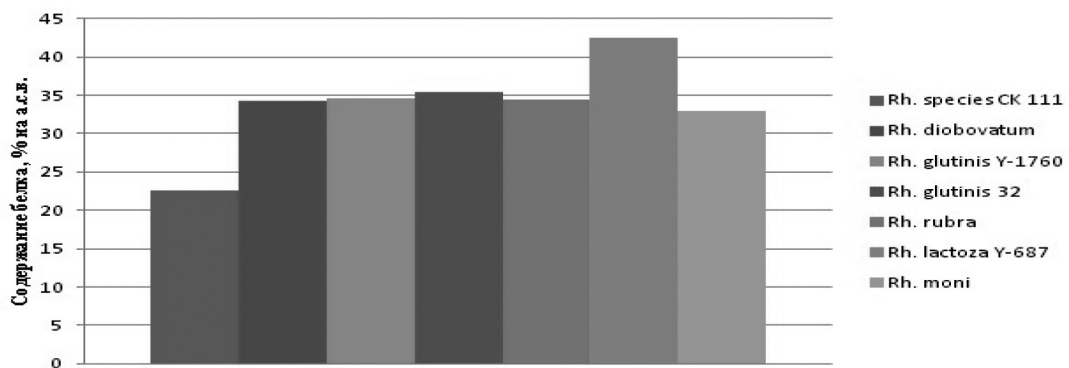


Рисунок 3 — Содержание белка в дрожжевой биомассе



Rhodospiridium diobovatum 115, *Rhodotorula glutinis* Y-1760, *Rhodotorula glutinis* 32, *Rhodotorula rubra* 1839, *Rhodotorula lactoza* Y-687, *Rhodotorula moni* 0890.

Статистическую обработку данных, полученных не менее, чем в 3-ех повторностях, осуществляли с помощью программы Microsoft Excel с использованием коэффициента Стьюдента (доверительный интервал 0,95).

На первом этапе исследований была проведена сравнительная оценка биосинтетической способности различных видов каротиноидных дрожжей для выбора штамма, перспективного в отношении накопления биомассы.

Из рис. 1 видно, что наибольший показатель по накоплению биомассы наблюдается у штамма *Rh. lactoza* Y-687 (рис. 1), который составил 7,95 г со 100 см³ питательной среды.

Количество биомассы после культивирования штаммов *Rh. glutinis* Y-1760, *Rh. glutinis* 32 и *Rh. dibovatum* 115 также было значительно, однако уступало *Rh. lactoza* Y-687 на 40%.

По содержанию остаточных углеводов в фугатах, полученных после отделения биомассы, были выявлены штаммы, обладающие большей способностью к ассимиляции питательных веществ из среды (рис. 2). Начальная концентрация углеводов в питательной среде составляла 6,7%.

Полученные в результате исследования данные соотносимы с результатами по накоплению биомассы. В результате роста культуры *Rh. lactoza* Y-687, произошло значительное снижение углеводов в питательной среде до значений 0,2%. Наименьшей способностью к утилизации сахара из среды обладал штамм *Rh. moni* (0,8%).

Важной составляющей промышленно полезных культур микроорганизмов, используемых для создания белково-витаминных кормовых добавок, является процентное содержание протеина в биомассе. Таким образом, на следующем этапе работы, в штаммах *Rhodospiridium species* CK 111, *Rhodospiridium diobovatum* 115, *Rhodotorula glutinis* Y-1760, *Rhodotorula glutinis* 32, *Rhodotorula rubra* 1839, *Rhodotorula lactoza* Y-687, *Rhodotorula moni* было исследовано содержание белка в % на абсолютно сухой вес (рис. 3).

На рис. 3 показано, что процентное содержание сырого протеина в биомассе штамма *Rh. lactoza* Y-687 превосходило значения белковых веществ в остальных штаммах (42,49 % на а.с.в.). Наименьшее количество протеина показано в биомассе *Rh. species* CK-111 (22,56 % на а.с.в.). А в биомассе дрожжей *Rh. dibovatum* 115, *Rh. glutinis* Y-1760, *Rh. glutinis* 32, *Rh. rubra* 1839 и *Rh. moni* количество белка было приблизительно одинаковым (32,96–35,45 % на а.с.в.).

Полученные данные позволяют судить о вышеописанных культурах дрожжей, как о богатом источнике кормового белка. Однако целью данного этапа работы являлось также изучение интенсивности накопления каротиноидов каждым из представленных штаммов.

При этом наиболее интенсивное окрашивание колоний при культивировании на сусло-агаре было характерно для культур *Rh. species* CK-111, *Rh. dibovatum* 115, *Rh. glutinis* 32 и *Rh. lactoza* Y-687. Наибольшее значение по количеству каротиноидов (мг/дм³ культуры) выявлено у штамма *Rh. glutinis* 32 (общее содержание каротиноидов определяли по значению оптической плотности экстрактов дрожжевой биомассы при $\lambda=501$

нм) [9], что в 1,5 раза превышало этот показатель у *Rh. lactosa* Y-687.

Таким образом, штамм *Rh. glutinis* 32 был выбран для проведения дальнейших селекционных исследований, направленных на повышение его биосинтетической способности.

Следующий этап работы заключался в исследовании влияния нитрозогуанидина — химического мутагена широкого спектра действия, на способность к синтезу белка и каротиноидов выбранным штаммом.

Клеточную суспензию штамма *Rhodotorula glutinis* 32 обрабатывали нитрозогуанидином с концентрацией 4%, время экспозиции 30 мин. После чего отмывали буфером и рассевали на сусло-агар и селективные агаризованные среды.

В результате культивирования, было отобрано 23 клона, по скорости роста и интенсивности окрашивания колоний. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Морфологическая характеристика отобранных клонов *Rhodotorula glutinis*

№	Вариант	Выращивание, ч			
		10	24	48	72
		Диаметр колонии, мм			
1	32-СХ-1	1	3	3	5
2	32-СХ-2	2	4	4	6
3	32-СХ-3	1	2	2	4
4	32-СХ-4	2	3	3	5
5	32-СХ-5	1	3	5	9
6	32-Г-1	1	3	5	12
7	32-Г-2	2	4	6	16
8	32-Г-3	1	2	7	17
9	32-Г-4	1	3	4	4
10	32-Г-5	2	4	4	8
11	32-Г-6	1	3	5	7
12	32-Л-1	1	2	2	5
13	32-Л-2	1	2	5	8
14	32-Л-3	2	4	6	9
15	32-Л-4	1	3	3	5
16	32-Л-5	1	2	4	5
17	32-Л-6	3	5	8	11
18	32-С-1	1	3	6	15
19	32-С-2	3	7	10	20
20	32-С-3	2	4	7	16
21	32-С-4	1	3	4	8
22	32-С-5	1	4	4	7
23	32-С-6	1	3	5	5
СХ-сахароза; Г-глюкоза; Л-лактоза; С-сусло					

Из представленных в таблице 1 результатов видно, что клоны *Rhodotorula glutinis* 32-Г-1, 32-Г-2, 32-Г-3, 32-С-2, 32-С-1, 32-С-3 обладают высокой скоростью роста, в связи с чем и были отобраны для дальнейших исследований.

Из диаграммы видно, что при культивировании мутантных клонов в течении 3 суток накопление биомассы составляет 4,82–5,74 г/100см³, что превышает контроль на 9–29%. При этом наибольшее количество биомассы было получено в результате культивирова-

ния клона *Rhodotorula glutinis* 32-С-2, выращенного на сусло-агаре.

Показания по содержанию остаточных углеводов после культивирования дрожжей, полученных после отделения биомассы, выявили штаммы, обладающие большей способностью к ассимиляции питательных веществ из среды (рис. 2).

В результате культивирования клонов показано, что вариант *R. glutinis* 32-С-2 утилизирует углеводы питательной среды интенсивнее, чем контрольный штамм на 28%.

На следующем этапе работы было исследовано содержание протеина в биомассах отобранных клонов, выраженное в % на а.с.в. (рис. 6).

По полученным результатам видно, что процентное содержание сырого протеина в биомассе клона *R. glutinis* 32 -С-2 составляет 42,0% , что значительно превышает показатели остальных вариантов. Повышение содержания белка относительно исходного штамма составило 22%.

На следующем этапе работы клон, отобранный в результате химического мутагенеза с целью дальнейшего повышения биосинтетической способности и получения стабильного мутанта подвергали УФ-облучению. Для этого клеточную суспензию штамма *R. glutinis* 32-С-2, обработанную ультрафиолетом рассевали на агаризованные селективные среды и сусло-агар.

В результате культивирования из 122 клонов по интенсивности окраски и скорости роста колоний выбрали 21 клон (таб. 2).

По результатам представленным в таблице 2, видно, что клоны *Rhodotorula glutinis* 32-М-12, СХ-3, СХ-4, С-18 обладают значительной скоростью роста, в связи с чем были отобраны для дальнейших селекционных работ.

Культивирование мутантных клонов осуществлялось глубинным способом на солодовом сусле. На рисунке 6 представлена сравнительная характеристика мутантных клонов по накоплению биомассы и количеству остаточных углеводов.

Из рис. 7 видно, что при культивировании мутантных клонов в течение 72 часов накопление биомассы составляет от 4,98 до 5,81 г/100см³. При этом наибольшее накопление биомассы наблюдалось у варианта 32-СХ-3–5,81г/100см³, что на 10,7 % превышало значение данного показателя у родительского штамма. Также показано, что данный клон наиболее интенсивно по сравнению с остальными ассимилирует углеводы среды.

На следующем этапе работы было исследовано содержание протеина в биомассах отобранных клонов, выраженное в % на а.с.в. (рис. 8).

По полученным результатам видно, что процентное содержание сырого протеина в биомассе клона *R. glutinis* 32 -СХ-3 составляет 45,94% , что значительно превышает показатели остальных вариантов. Повышение содержания белка относительно исходного штамма составило 29%.

Таким образом, в результате ступенчатого мутагенеза с использованием мутагенов химической и физической природы получен штамм *R. glutinis* 32 -СХ-3 превосходящий исходный по содержанию сырого протеина и каротиноидов (рис. 9). Повышение

Рисунок 4 — Накопление биомассы при культивировании клонов *Rhodotorula glutinis* 32

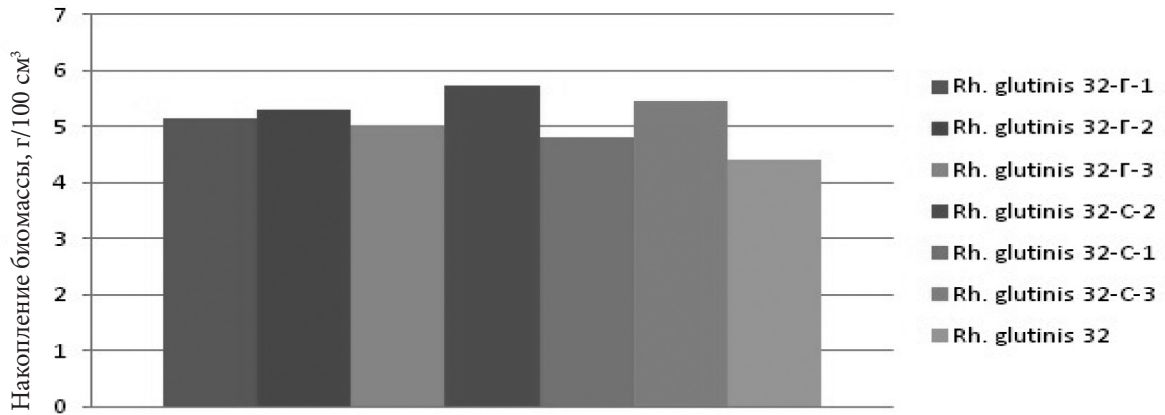


Рисунок 5 — Содержание остаточных углеводов после культивирования клонов *Rhodotorula glutinis* 32

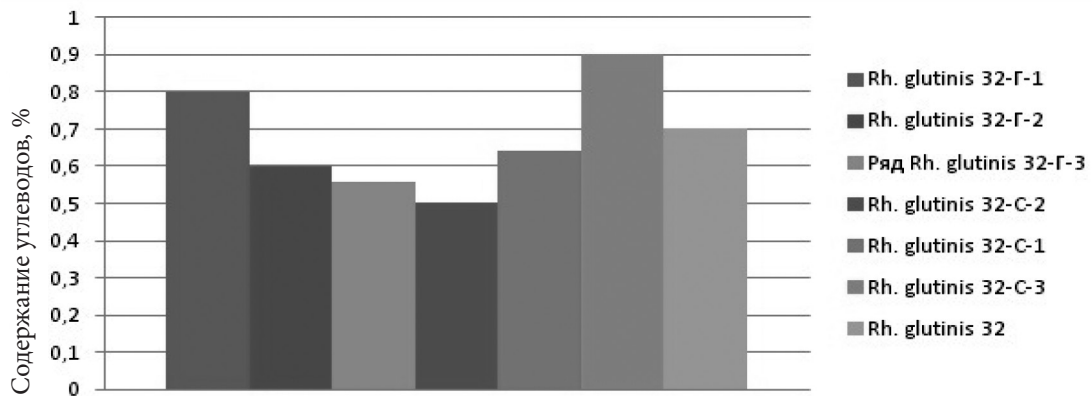


Рисунок 6 — Содержание белка в дрожжевой биомассе

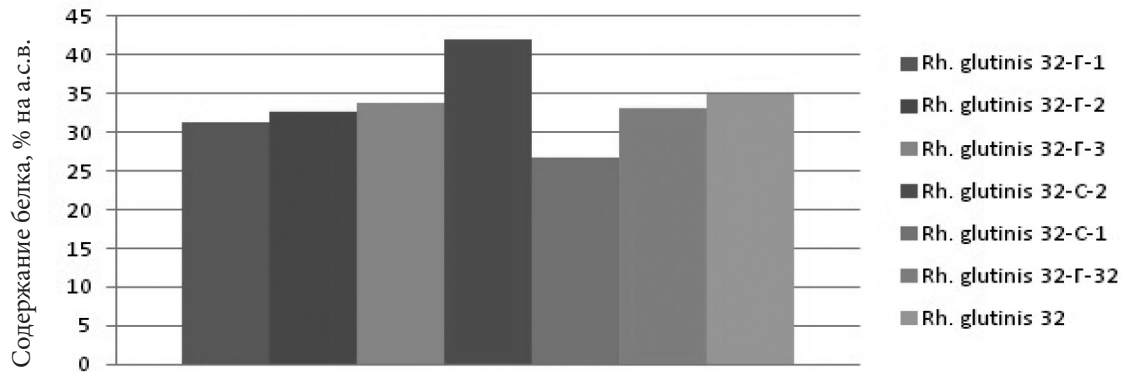


Рисунок 7 — Показатели роста отобранных клонов при глубинном культивировании

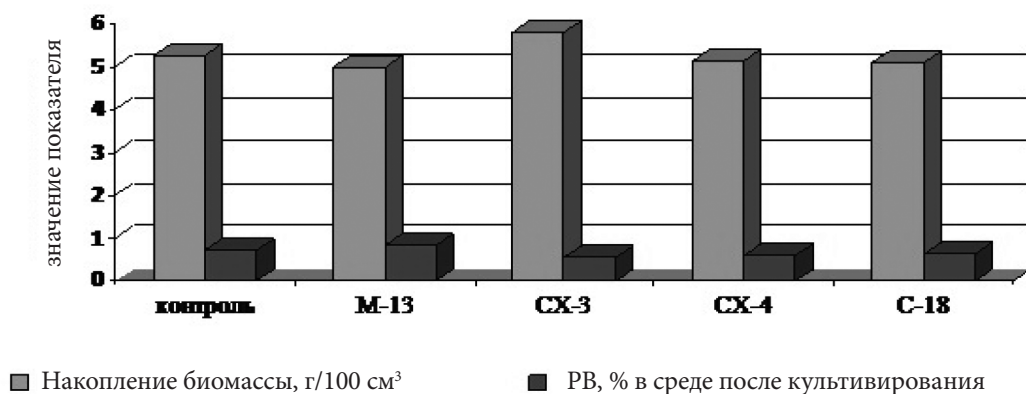


Рисунок 8 — Содержание белка в дрожжевой биомассе

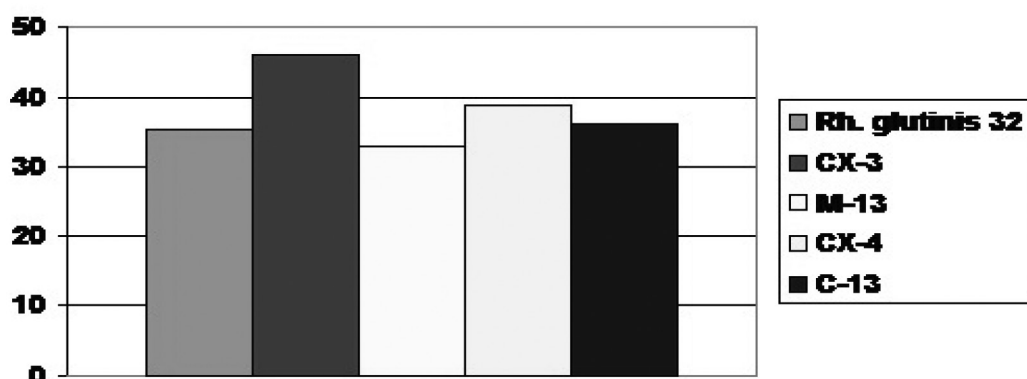
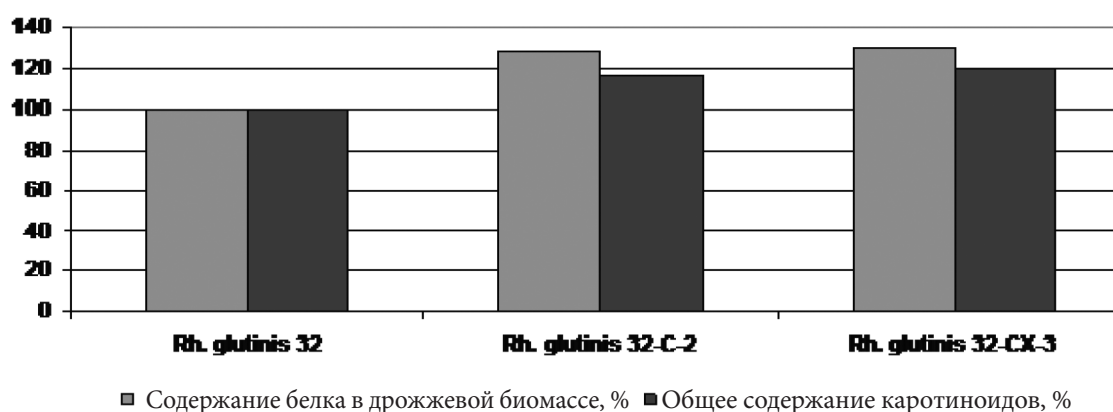


Рисунок 9 — Биохимические показатели исходного и мутантных штаммов

Таблица 2 — Морфологическая характеристика отобранных клонов *R. glutinis* 32-C-2

№	Вариант	Разведение клеточной суспензии	Время экспозиции	Выращивание, ч			
				10	24	48	72
				Диаметр колонии, мм			
1	CX-1	10 ⁻⁵	3'	1	2	3	4
2	CX-2	10 ⁻⁵	3'	2	3	3	5
3	CX-3	10 ⁻⁷	5'	2	3	5	7
4	CX-4	10 ⁻⁷	5'	2	3	4	6
5	CX-5	10 ⁻⁵	7'	1	2	2	3
6	Г-6	10 ⁻⁷	3'	1	1	2	2
7	Г-7	10 ⁻⁷	3'	1	1	1	2
8	Г-8	10 ⁻⁵	5'	1	2	2	3
9	Г-9	10 ⁻⁷	5'	1	3	3	3
10	Г-10	10 ⁻⁵	7'	2	4	4	8
11	Г-11	10 ⁻⁵	7'	1	2	3	4
12	М-12	10 ⁻⁷	3'	2	4	6	8
13	М-13	10 ⁻⁷	3'	1	2	3	4
14	М-14	10 ⁻⁵	5'	1	1	2	4
15	М-15	10 ⁻⁵	5'	1	3	3	4
16	М-16	10 ⁻⁵	7'	1	2	4	5
17	М-17	10 ⁻⁵	7'	1	3	3	4
18	С-18	10 ⁻⁷	3'	3	5	6	9

Окончание табл. 2

№	Вариант	Разведение клеточной суспензии	Время экспозиции	Выращивание, ч			
				10	24	48	72
				Диаметр колонии, мм			
19	C-19	10 ⁻⁵	3'	2	3	3	5
20	C-20	10 ⁻⁵	5'	2	4	5	5
21	C-21	10 ⁻⁵	7'	1	3	4	6

CX-сахароза; Г-глюкоза; М-мальтоза; С-суло

относительно исходного штамма *R. glutinis* 32 по содержанию белка и каротиноидов составило у штамма после химического мутагенеза 28,5% и 16,4%, после физического мутагенеза 30% и 19,79% соответственно.

НИР по подготовке рукописи проведена за счет субсидии на выполнение Госзадания в рамках Программы научных исследований государственных академий наук на 2019–2021 годы (тема № 0529–2019–0066).

Список литературы

- Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. — М.: Наука, 1988.-239 с.
- Букин Ю.В.(Bukin et al.) Витамины и β-каротин в профилактике злокачественных образований // Вопросы питания. — 1993. — №4. — С. 9-12.
- Римарева Л.В., Лозанская Т.И., Худякова Н.М., Погоржельская Н.С. Использование отходов ферментного производства в технологии кормовых дрожжей из зерновой барды // Сб.научных трудов «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов. — М. — 2016. — С.381 — 383
- Дейнека В.И., Шапошников А.А., Дейнека Л.А. Каротиноиды: строение, биологические функции и перспективы использования // Научные ведомости БелГУ. — 2008. — №6. — С.19-25
- Римарева Л.В., Фурсова Н.А., Соколова Е.Н., Лозанская Т.И., Худякова Н.М. Разработка технологических режимов культивирования штаммов дрожжей, перспективных для получения кормового белка // Сб.научных трудов «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов.- М.-2014.-С.294-297
- Шашакина М.Я., Шашкин П.Н., Сергеев А.В. Каротиноиды как основа для создания лечебно-профилактических средств // Российский биотерапевтический журнал. — 2009. — №8. — Т.8. — С.91 — 98
- Государственная программа развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия [Текст] — утв. и введ. Постановлением Правительства РФ от 14 июля 2012 г. N 717, 2012. — 824 с.
- Артюхова С.И., Бондарева Г.И. Биотехнология новых форм каротиноидных препаратов на основе микробного синтеза // Россия молодая: передовые технологии — в промышленность! — 2013. — №3. — С. 4-6
- Парамонов И.Е., Кравченко Н.Л., Балпанов Д.С., Тен О.А. Культивирование дрожжей — продуцентов кормового белка на соке сахарного сорго // Биотехнология. Технология и практика. 2012. № 4. С. 20-24
- Серба Е.М., Соколова Е.Н., Фурсова Н.А., Волкова Г.С., Борщева Ю.А., Курбатова Е.И., Куксова Е.В. Получение биологически активных добавок на основе обогащенной дрожжевой биомассы / Е.М. Серба, Е.Н. Соколова, Н.А. Фурсова, Г.С. Волкова, Ю.А. Борщева, Е.И. Курбатова, Е.В. Куксова // Хранение и переработка сельхозсырья. — 2018 — № 2 — С. 74-79

ПРЕВРАЩЕНИЕ ОТХОДОВ ТЕХНОГЕННОЙ СФЕРЫ И СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В ПОЛЕЗНЫЕ ПРОДУКТЫ С ПОМОЩЬЮ ГРИБОВ

Титова Ю.А.

ВНИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Ежегодно в мире накапливается около 5 млрд т отходов или вторичных продуктов промышленной и сельскохозяйственной переработки растений и древесины [1–3]. Осуществляемый растениями биосинтез природных полимерных углеводов, таких, как целлюлоза, гемицеллюлоза и сложный, устойчивый к действию физико-химических факторов окружающей среды, ароматический полимер лигнин, ведет к выключению углерода из биологического круговорота. Минерализация

этих природных полимеров, осуществляемая в природе путем биоконверсии, приводит к высвобождению углерода и вовлечению его вновь в биологический круговорот [4, 5]. Цикличность, характеризующая взаимоотношения в пределах экосистем и биосферы, обеспечивает высокую экономичность, эффективность и устойчивость живых систем благодаря многократному использованию одних и тех же структур [6]. Следует отметить, что только высшим дереворазрушающим

грибам свойственно быстрое и глубокое ферментативное разложение лигнина до полной минерализации [7–9]. Эти природные биотехнологии с давних времен используются в искусственном культивировании грибов в пищевых и медицинских целях [10, 11]. В процессе развития на целлюлозолигнинсодержащих отходах ксилотрофные базидиомицеты утилизируют из субстрата до 70% содержащейся в них целлюлозы и 80% лигнина, переводя все полисахаридные комплексы в усвояемую (водорастворимую) другими организмами форму [11, 12]. Мультиконверсионные отходы производства съедобных грибов содержат удвоенное количество общего азота и микроэлементов, обогащены витаминами и биологически активными веществами. Таких отработанных субстратов, обладающих разнообразными источниками углеродного, азотного, фосфорного питания и широким набором микроэлементов, при мировом производстве плодовых тел различных съедобных грибов в 7 млн. т/год, остается в 5 раз больше — около 35 млн. т/год [11, 13]. Поэтому отработанные субстраты используют для дальнейшего культивирования съедобных грибов; в качестве кормов для сельскохозяйственного животноводства и птицеводства; как органические удобрения; для экстракции органических и неорганических веществ; в качестве биотоплива, в биоремедиации, а также в производстве биопрепаратов [13–19]. Основа биологических препаратов — полезные для защиты растений микроорганизмы или продукты их жизнедеятельности, которые вызывают заболевания и гибель вредителей и патогенов растений. Современные биопрепараты — одна из основ биотехнологий фитосанитарной оптимизации агроэкосистем, поскольку они разрабатываются с использованием популяций микроорганизмов с полифункциональностью, обусловленной синтезом разнообразных БАВ с различной целевой активностью, высоким адаптационным потенциалом, экологической пластичностью и технологичностью. Эти свойства обусловлены способностями штаммов-продуцентов биопрепаратов быстро и максимально полно утилизировать дешевые и доступные источники питания, обладать возможностями выдерживания воздействия экологических факторов и длительно сохранять жизнеспособность и целевую активность в разных препаративных формах [20,21]. Проявлению вышеописанных свойств штаммов-продуцентов биопрепаратов, обеспечению их полифункциональности способствует использование конверсионных отходов производств съедобных грибов в качестве субстратной основы биопрепаратов [22].

Цель настоящей работы — биологически обогатить превращение отходов техногенной сферы и сельского хозяйства в полезные продукты с помощью грибов. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи: оценить эффективность биоконверсии отходов техногенной сферы и сельского хозяйства в моно-, би- и трикультурах шиитаке, вешенки и шампиньона; оценить эффективность мультибиоконверсии отходов моно-, би- и трикультур съедобных макромицетов штаммами микромицетов — продуцентами биопрепаратов для защиты растений; оценить целевую активность штаммов-продуцентов и биологическую эффективность мультиконверсионных биопрепаратов различного спектра действия; разработать

методологию получения мультиконверсионных полифункциональных биопрепаратов (МПБ); разработать мультибиоконверсионные технологии получения биопрепаратов на отходах производств шиитаке, вешенки и их бикультуры.

Объекты исследований: 2 штамма *Lentinula edodes*, 5 штаммов *Pleurotus ostreatus*, 7 штаммов *Agaricus bisporus*, 3 штамма *Trichoderma asperellum*, 2 штамма *Brachycladium papaveris*, 1 штамм *Sclerotinia sclerotiorum*, 2 штамма *Fusarium culmorum*, 1 штамм *F. oxysporum*, 1 штамм *Stagonospora cirsii*, 2 штамма *Lecanicillium muscarium*, 3 штамма *Beauveria bassiana*, 1 штамм *B. pseudobassiana*, 2 штамма *Metarhizium anisopliae*. Материалы исследований: 24 типа отходов техногенной сферы и сельского хозяйства, конверсионные отходы моно-, би- и трикультуры съедобных грибов. Для получения и хранения чистых культур макро- и микромицетов, а также наработки инокулюмов использовали агаризованные и жидкие питательные среды: Чапека и на основе водных экстрактов конверсионных субстратов. Приготовление, стерилизацию сред и конверсионных субстратов, мелкообъемное лабораторное и полупромышленное культивирование осуществляли по описанным методикам [10,11,23,24]. Эффективность биоконверсии оценивали по показателям линейной скорости роста (мм/сут), скорости колонизации (мм³/сут), морфогенезу и урожайности (для макромицетов), конидиогенезу и споропродуктивности (для микромицетов); содержание питательных компонентов оценивали в % от абсолютной сухой массы субстрата; целевую биологическую активность штаммов-продуцентов МПБ оценивали: антагонистическую — по величине зон подавления роста, барража, нарастания при взаимодействии с тест-культурами фитопатогенных микромицетов; инсектицидную и вирулентность — по % гибели и микозов тест-объектов; гербицидную — по % гибели целевых растений и снижению их биометрических показателей; деструктивную — по % снижения биомассы и содержания целлюлозы и лигнина. Жизнеспособность штаммов-продуцентов выявляли по сохранению титра и целевой активности в условиях хранения. Полевую эффективность лабораторных образцов (ЛО) МПБ выявляли наличием фиторегуляторной активности (изменения биометрических показателей развития растений) и по параметрам вредоносности: распространенности и развития болезней и потерям урожая. Для статистической обработки результатов применяли расчеты стандартных ошибок (SEM) и t-критерия Стьюдента для попарного сравнения вариантов (Microsoft Excel 2010, Statistica 6).

В процессе работы выявлено: увеличение количества целлюлозы в отходах приводило к пропорциональному достоверному ($p \leq 0,05$) увеличению скорости колонизации шиитаке этих отходов — от 600 до 1 000 мм³/сут и урожайности от 10,1 до 29,4% от веса влажного субстрата (при урожайности на промышленном субстрате 19,2%); отсутствие достоверного влияния на скорости роста и урожайность всех исследованных штаммов вешенки при увеличении до 50% количества лигнинсодержащих компонентов в смесях отходов (средние скорости роста — 6,2–7,8 мм/сут; средние скорости колонизации — 25000–30 000 мм³/сут; средняя урожайность — 18,0–20,0%, при урожайности на промышлен-

ном субстрате 23,0 % — для промышленных гибридов); отсутствие достоверных различий по скорости роста и колонизации вешенкой промышленного и конверсионного (отхода промышленного культивирования шиитаке) субстратов; достоверные ($p \leq 0,05$) различия по морфогенезу и урожайности вешенки на промышленном и конверсионном субстратах (среднее количество примордиев/базидиом I волны — 7 126,2/228,8 и 23 043,1/294,1 шт./м², урожайность 33,1% и 20,4%, соответственно); лучшие показатели роста, морфогенеза и урожайности шампиньона на мультиконверсионном субстрате после бикультуры шиитаке и вешенки.

Наиболее низкое содержание трудноусваиваемых компонентов и наибольшее содержание общего азота и белка (целлюлозы и лигнина в 2,2 и 1,5 раза ниже, а азота и сырого протеина в 2,3 и 3,5 выше, чем в промышленном субстрате для культивирования шиитаке) выявили в субстрате после бикультуры шиитаке и вешенки.

На конвертированных съедобными макромицетами отходах развивались все исследованные 18 штаммов микромицетов-продуцентов биопрепаратов с коррелирующими с промышленными образцами скоростями роста и титрами. На основе мультиконверсионных субстратов были получены твердофазным культивированием ЛО новых МПБ и оценены их активность и эффективность в вегетационных и полевых опытах, которая не уступала промышленным аналогам.

На основании полученных результатов разработана методология получения МПБ, основанная на вовлечении отходов техногенной сферы и сельского хозяйства в процессы увеличения их питательной ценности за счет переработки труднорастворимых компонентов съедобными макромицетами; получении конверсионных субстратов и дальнейшем культивировании на них штаммов-продуцентов; получении ЛО МПБ и многоэтапном тестировании их фитосанитарных показателей (целевой активности, полевой эффективности, жизнеспособности); наработке опытных партий МПБ и их научно-производственной апробации в различных системах защиты с/х культур; оптимизации технологического процесса получения МПБ; оптимизации условий их хранения; разработке научно-технологической документации (НТД).

Проведена научно-производственная апробация в полевых условиях 12 новых МПБ в системах защиты картофеля и свеклы; в биодеструкции пожнивных остатков кукурузы; в технологиях экологически обоснованного контроля наркотикосодержащих растений. Разработана НТД (Лабораторные регламенты и Технические условия) на получение 12- и гранулированных субстратных МПБ на основе штаммов-продуцентов различного целевого назначения и 2 регламента применения одного из них, а также мультиконверсионные технологии получения МПБ на отходах производств шиитаке, вешенки и их бикультуры.

Список литературы

1. Раскатов В.А., Фокин А.Д., Титова В.И. Технологии обращения с отходами. М.: Изд-во РГАУ — МСХА им. К.А. Тимирязева. 2011. 112 с.
2. Волова Т.Г. Биотехнология. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 1999. 252 с.
3. Павленко О.Ю. Забашта Н.Н. Обращение со вторичными ресурсами сельскохозяйственного производства. Мат.: Междунар. науч.-практ. конф. «Итоги и перспективы развития агропромышленного комплекса» ФГБНУ «ПНИИАЗ». Солонное Займище. 2018:347–350.
4. Голубев И.Г., Шванская И.А., Коноваленко Л.Ю., Лопатников М.В. Рециклинг отходов в АПК: справочник. — М.: ФГБНУ «Росинформагротех». 2012. 296 с.
5. Векленко В.И. Исследование потенциальных возможностей использования сельскохозяйственных отходов в народнохозяйственном комплексе Курской области. Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. 7:20–21.
6. Уголев А.М. Естественные технологии биологических систем. Л. 1987. 318 с.
7. Capelari M., Zadrazil F. Lignin degradation and in vitro digestibility of wheat straw treated with Brazilian tropical species of white rot fungi. Folia Microbiol. 1997. 42:481–487 DOI: 10.1007/BF02826558.
8. Martinez A.T., Speranza M., Ruiz-Duenas F.J., Ferreira P., Camarero S., Guillen F. et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. Int Microbiol. 2005. 8:195–204.
9. Sánchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. Biotechnol Adv. 2009. 27:185–194 DOI: 10.1016/j.biotechadv. 2008.11.001.
10. Sánchez C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. Appl Microbiol Biotechnol. 2010. 85(7):1321–1337 DOI 10.1007/s00253–009–2343–7.
11. Stamets P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press. 2016. 1320 p.
12. Титова Ю. А. Мультибиоconversion отходов техногенной сферы съедобными грибами. Вестник защиты растений. 2016. 3(89):166–168.
13. Sánchez C. Modern aspects of mushroom culture technology. Appl Microbiol Biotechnol. 2004. 64(6):756–762 DOI: 10.1007/s00253–004–1569–7.
14. Edible and Medicinal Mushrooms Technology and Applications. By edition: Zied D.C., Pardo-Giménez A. Wiley-Blackwell. 2017. 574 p. ISBN: 9781119149415.
15. Hanafi F.H.M., Rezanía S., Taib S.M., Md Din M.F., Yamauchi M., Sakamoto M. et al. Environmentally sustainable applications of agro-based spent mushroom substrate (SMS): an overview. Journal of Material Cycles and Waste Management. 2018. 20:1383–1396 DOI: 10.1007/s10163–018–0739–0.
16. Siddhant, Singh C.S. Recycling of spent oyster mushroom substrate to recover additional value. Kathmandu University Journal of Science Engineering and Technology. 2009. 5:66–71.
17. Титова Ю.А., Хлопунова Л.Б., Коршунов Д.В. Двухэтапная биоconversion отходов с помощью *Pleurotus ostreatus* и *Trichoderma asperellum*. Микология и фитопатология. 2002. 36(5):64–70.
18. Титова Ю.А., Новикова И.И., Хлопунова Л.Б., Коршунов Д.В. Триходермин на основе вторичной биоconversion отходов и его эффективность против болезней огурца. Микология и фитопатология. 2002. 36(4):76–80.

19. Новикова И.И., Титова Ю.А., Краснобаева И.Л., Рыжанкова А.В., Титов В.С., Семенович А.С. Особенности развития штамма *Dendryphion penicillatum* 1.39 на питательных субстратах различного состава. Микология и фитопатология. 2010. 44(1):71–87.
20. Новикова И.И. Биологическое разнообразие микроорганизмов — основа для создания новых полифункциональных биопрепаратов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Вестник защиты растений. 2016. 87(3):120–122.
21. Новикова И.И., Титова Ю.А., Бойкова И.В., Зейрук В.Н., Краснобаева И.Л. Биологическая эффективность новых биопрепаратов на основе микробов-антагонистов в контроле возбудителей болезней картофеля при вегетации и хранении клубней. Биотехнология. 2017. 33(6):68–76. DOI: 10.21519/0234–2758–2017–33–6–68–76.
22. Титова Ю.А., Новикова И.И., Бойкова И.В., Павлюшин В.А., Краснобаева И.Л. Мультибиоконверсионные твердофазные биопрепараты нового поколения на основе *Bacillus subtilis* и *Trichoderma asperellum* повышают эффективность защиты картофеля от фитофтороза. Сельскохозяйственная биология. 2019. 54(5):1002–1013. DOI: 10.15389/agrobiology. 2019.5.1002rus
23. Методы экспериментальной микологии: Справочник. Под ред. В. Н. Билай. Киев: Наук. думка. 1982. 550 с.
24. Титова Ю.А. Методология получения мультиконверсионных биопрепаратов для защиты растений. В сб.: Науч. тр. III Всеросс. съезда по защите растений «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем». СПб: ГНУ ВИЗР. 2013. 2:396–400.

ГРИБНЫЕ BIOTECHNOLOGIES ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АКУСТИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ

Цивилева О.М.¹, Панкратов А.Н.², Кузнецова И.Е.³, Зайцев Б.Д.⁴, Шихабудинов А.М.⁴

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

²Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского

³Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН

⁴Саратовский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН

В связи с проблемами охраны окружающей среды, экологического мониторинга вредных выбросов, экологической безопасности и здоровья населения России актуальна проблема разработки газовых сенсоров. В настоящее время существует большое число работ, в которых предлагается использовать в качестве таких датчиков акустоэлектрические устройства, в частности пьезоэлектрические резонаторы [1]. Основной проблемой в настоящее время является поиск чувствительных покрытий для таких датчиков, которые были бы селективны по отношению к конкретным газам или парам [1,2].

Ранее экспериментально было установлено, что экстракты некоторых грибов проявляют высокую сорбционную чувствительность к парам фенола и воды. В результате проведенных работ на основе экстрактов высшего гриба *Pleurotus ostreatus* (вешенка обыкновенная) был разработан модификатор электродов пьезодатчика резонаторного типа, характеризующийся высокой чувствительностью к парам фенола, быстрым временем опроса и допустимой погрешностью определения [2]. Однако на предмет сорбционной чувствительности к парам других летучих жидкостей и газов эти биообъекты и экстракты из мицелия других высших грибов не изучены; не исследовались грибные изоляты в зависимости от условий выращивания исходной культуры.

Цель настоящей работы — выяснение возможности использования в качестве чувствительного покрытия для акустоэлектронных сенсоров пленок, образующихся после испарения растворителя из экстрактов мицелия высшего гриба.

Для определения возможности использования пленок из экстрактов мицелия высших грибов в качестве газочувствительного покрытия вначале была разработана методика определения их физических параметров, затем была разработана методика для регистрации изменения этих параметров в результате взаимодействия с газовой средой и определены условия получения пленок, параметры которых восстанавливались после прекращения воздействия химического агента.

Для определения акустических характеристик пленок из экстрактов мицелия необходимо было разработать методику их создания. Для проведения экспериментов использовались образцы мицелия базидиомицета *Lentinula edodes* (шиитакэ), выращенного на синтетической среде культивирования, содержащей 9 г/л D-глюкозы и 1.5 г/л L-аспарагина, а также индол-3-уксусную кислоту (ИУК) и триптофан в качестве добавок. Экстракция из мицелия проводилась: 1) дистиллированной водой; 2) 96 об. %-ным этанолом; 3) водно-этанольной смесью с объемным соотношением 1:1. В результате образцы представляли собой суспензию из мицелиальной массы и экстрагирующего материала.

Для проведения исследований на первом этапе была отработана технология создания составного резонатора, нагруженного пленкой экстракта мицелия. При проведении экспериментов применялся кварцевый резонатор промышленного типа с частотой ~3 МГц с продольным электрическим полем. На поверхность одного из его электродов при помощи мерной пипетки наносили 4 мкл раствора экстракта мицелия. Такое количество мицелия позволяло полностью покрыть электрод, и в то же время излишки раствора не выходили

за границы области металлизации. Затем резонатор выдерживался на воздухе в течение суток для высушивания экстракта и получения мицелиальной пленки. В результате на поверхности резонатора образовывалась тонкая, прозрачная пленка экстракта мицелия. Полученный составной резонатор использовался для дальнейших экспериментов.

Для проведения исследований сорбционной чувствительности этих пленок в лабораторных условиях было разработано специальное устройство, позволяющее создать газовую среду в отдельно взятом объеме. Устройство состояло из стеклянного цилиндра, в объеме которого создавалась газовая среда. Один конец цилиндра заканчивался наружной резьбой для завинчивающейся крышки, а второй имел металлическую часть с внутренней резьбой для соединения с основанием резонатора. Из основания выходили концы электродов для соединения с измерительным прибором. Особое внимание уделялось контакту электродов резонатора с измерительным прибором. В верхней части цилиндра была расположена стеклянная колба для летучей жидкости, пары которой постепенно заполняли камеру стеклянного цилиндра. Данное устройство [3] использовалось для проведения исследования влияния газов и паров летучих жидкостей на акустические характеристики мицелиальных пленок.

Для определения плотности, модулей упругости, коэффициентов вязкости и толщины мицелиальной пленки использовалась методика, описанная в [3]. Для проведения измерений использовался комбинированный прецизионный измеритель LCR-параметров Agilent 4582A.

В результате проведенной работы нами была исследована сорбционная чувствительность экстрактов мицелия высшего гриба шиитакэ к парам таких летучих жидкостей, как *n*-гексан, ацетон, уксусная кислота, этилацетат, хлороформ, а также к 10 %-ному водному раствору аммиака, концентрированному (плотность 1,18 г/см³) водному раствору хлороводорода (соляной кислоте) и 40 %-ному водному раствору формальдегида (формалину).

Оказалось, что присутствие газа или паров летучей жидкости приводит к уменьшению резонансной частоты и максимальной величины действительной части импеданса, а также к соответствующему изменению перепада реактивной части электрического импеданса кварцевого резонатора, покрытого мицелием. Разработаны технологические приемы получения пленок

мицелия, для которых после удаления паров по истечении некоторого времени резонансная частота и добротность резонатора возвращаются к исходному положению.

Разработаны технологические приемы получения пленок, параметры которых (плотность, модуль упругости, вязкость) меняются в присутствии конкретного газа или паров летучей жидкости, а после прекращения воздействия эти параметры возвращаются к своим исходным значениям.

Для установления факта присутствия газообразного аммиака рекомендуется использовать пленку экстракта мицелия *Lentinus edodes* F-249 в возрасте 14 суток, выращенного в синтетической среде культивирования с добавкой индолил-3-уксусной кислоты (0,2 мг/л) и экстрагированного этанолом. Для определения паров формальдегида можно использовать экстракт того же мицелия, но уже с добавкой триптамина (10¹ г/л) и экстрагированного водно-этанольной смесью (1:1 по объему). Для определения паров этилацетата должен использоваться все тот же мицелий, но с добавкой индолил-3-ацетамида (10¹ г/л) и экстрагированный водно-этанольной смесью (1:1).

Мицелиальные пленки как перспективный восстанавливающийся после воздействия материал можно использовать для создания на их основе чувствительных элементов акустических химических сенсоров, для регистрации присутствия вредных для здоровья человека паров в окружающей среде.

Список литературы

1. Venema A., Nieuwkoop E., Vellekoop M.J., Nieuwenhuizen M.S., Barendsz A.W. Design Aspects of Saw Gas Sensors // *Sensors and Actuators*. 1986. Vol. 10, № 1–2. P. 47–64.
2. Пат. 2346051 Российская Федерация. МПК С 12 Q 1/00 (2006/01) G 01 N 27/00 (2006/01). Биомодификатор для определения фенола и его производных / О.М. Цивилева, В.Е. Никитина, Т.А. Кучменко, Ю.Е. Силина, А.Н. Панкратов. Заявл. 26.02.2007, № 2007106772/13; Оpubл. 10.02.2009. 7 с. // *Изобретения. Полезные модели*. 2009. Бюл. № 4 (Ч. III). С. 837.
3. Kuznetsova I.E., Zaitsev B.D., Shikhabudinov A.M. Elastic and Viscosity Properties of Nanocomposite Films Based on Low-Density Polyethylene // *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*. 2010. Vol. 57, № 9. P. 2099–2102.

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ БЛАГОРОДНЫХ МЕТАЛЛОВ ОПРЕДЕЛЕННОГО РАЗМЕРА С ПОМОЩЬЮ «МИКОГЕННОГО СИНТЕЗА»

Ветчинкина Е.П., Никитина В.Е.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

Наночастицы находят самое разное применение в различных областях науки и техники, и в последнее время область их использования расширяется все больше. Например, золотые наночастицы используются в оптико-электронике, катализе и биомедицине [1–3]. Наночастицы серебра благодаря своим особым свойствам эффективны для применения в катализе химических реакций, в качестве биомаркеров, для получения антистатических, биосенсорных, криогенных сверхпроводящих материалов, косметической продукции, электроники [3–5]. Биогенные наночастицы и наноматериалы находят применение в тех же областях, что и синтезированные традиционными методами, но часто обладают повышенной стабильностью, биосовместимостью и более низкой токсичностью, поэтому биологический синтез наночастиц набирает популярность. Физико-химические свойства наночастиц тесно связаны с их химическим составом и кристаллической структурой, а также с размером, морфологией и однородностью в суспензии, что определяет область их дальнейшего применения. В связи с этим, важной задачей является необходимость разработки методов «зеленого синтеза» наночастиц, позволяющих как можно лучше контролировать их размер, форму и другие свойства.

Цель исследования — изучение возможности влияния на размер, форму и однородность формирующихся наночастиц серебра и золота и их процентное соотношение при «микогенном синтезе» в зависимости

от возраста культуры базидиомицета *Lentinus edodes* и времени инкубации.

Материалы и методы исследования. В большинстве исследований для получения наночастиц используются бактерии и микроскопические грибы, многие из которых являются патогенными. Более перспективным подходом представляется использование культивируемых съедобных и лекарственных базидиальных макромицетов, в частности *L. edodes*, поскольку они широко используются для получения продуктов питания, пищевых добавок и лекарственных препаратов [5,6]. Культуру *L. edodes* выращивают в течение 7 и 14 суток в условиях глубинного культивирования на жидкой питательной среде следующего состава (г/л): *D*-глюкоза — 1; *L*-аспарагин — 0,1; K_2HPO_4 — 2; K_2HPO_4 — 3; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 2,5; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,03, pH 5,8; в колбах объемом 100 мл с 50 мл среды с периодическим перемешиванием при температуре 26 °С, являющейся оптимальной температурой роста мицелия для данного вида гриба. Культуральную жидкость отделяли от мицелия центрифугированием при 8000 *g* в течение 20 минут и фильтровали. Полученные бесклеточные фильтраты инкубировали в темноте при температуре 23–26 °С от 1 до 180 минут с водными растворами HAuCl_4 или AgNO_3 в конечной концентрации 50 мкМ или 0,5 мМ, соответственно. Оценку размера и формы наночастиц проводили с помощью трансмиссионных электронно-микроскопических изображений на просвечивающем электронном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss,

Рисунок 1 — Распределение по размеру (%) наночастиц золота, полученных из HAuCl_4 с использованием бесклеточного фильтрата культуральной жидкости 7-суточной культуры *L. edodes* в зависимости от времени инкубирования

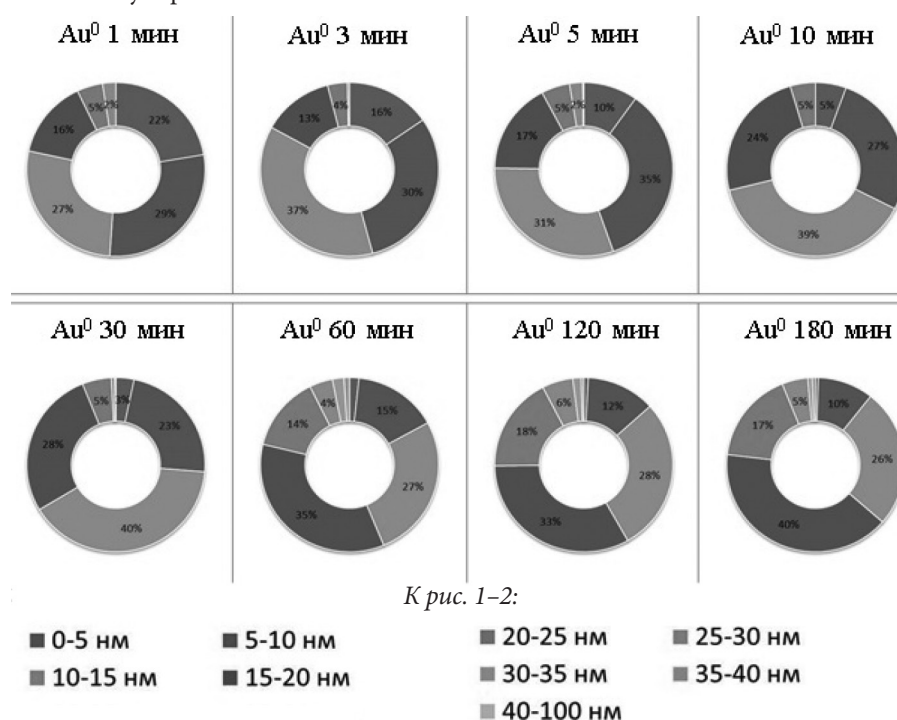


Рисунок 2 — Распределение по размеру (%) наночастиц серебра, полученных из AgNO_3 с использованием бесклеточного фильтрата культуральной жидкости 7-суточной культуры *L. edodes* в зависимости от времени инкубирования

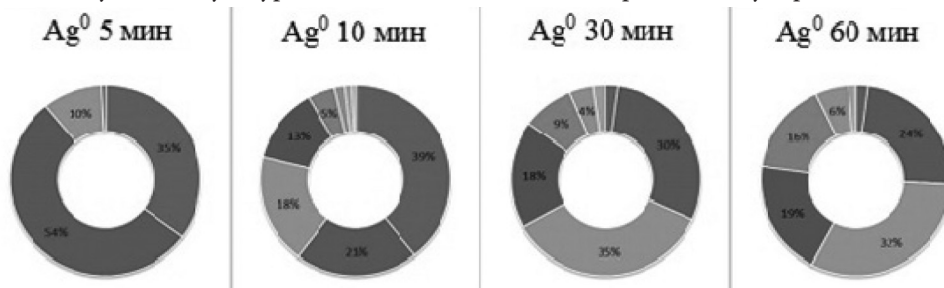


Рисунок 3 — Просвечивающая электронная микроскопия наночастиц золота, полученных из HAuCl_4 с использованием бесклеточного фильтрата культуральной жидкости 7-суточной культуры (а) и 14-суточной культуры (б) базидиомицета *L. edodes* при 30 минутах инкубирования. Масштаб — 100 нм

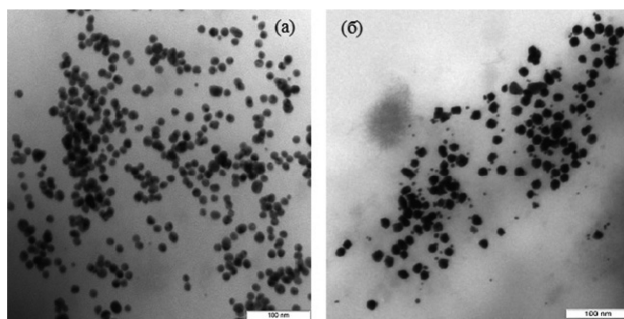
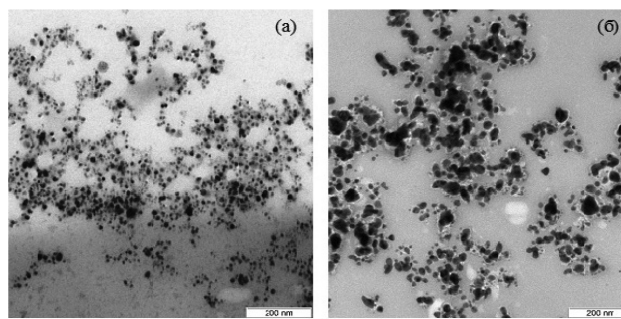


Рисунок 4 — Просвечивающая электронная микроскопия наночастиц серебра, полученных из AgNO_3 с использованием бесклеточного фильтрата культуральной жидкости 7-суточной культуры (а) и 14-суточной культуры (б) базидиомицета *L. edodes* при 30 минутах инкубирования. Масштаб — 200 нм



Гермния), используя метод негативного контрастирования. При инкубировании культуральной жидкости 7-суточной культуры *L. edodes* с HAuCl_4 наносферы золота образовывались уже через 1 минуту. Содержание сверхмалых наночастиц (1–5 нм) при инкубировании от 1 до 30 минут уменьшается с 22 до 3% за счет увеличения количества наносфер диаметром 15–20 нм с 13 до 28%. При инкубировании более 30 минут (60–180 минут) сверхмалых частиц практически не наблюдалось, содержание наночастиц размером 5–10 нм уменьшалось с 35 до 10%, содержание наносфер размером 15–20 нм составляло 35–40%, содержание частиц диаметром 20–25 нм увеличивалось с 5 до 18%. Доля наночастиц диаметром 10–15 нм была достаточно стабильна и составляла от 27 до 40% на протяжении всего времени инкубирования. Средний размер наносфер с течением времени инкубации увеличивался с 10 до 20 нм, наночастицы были мономорфны (рис. 1).

Наночастицы серебра начинали формироваться спустя 5 минут инкубирования бесклеточного фильтрата с нитратом серебра. При инкубировании в течение 5–10 минут формировались малые частицы металлического серебра, доля наночастиц диаметром 1–5 нм составляла 35%, 5–10 нм — 54%. При увеличении времени инкубирования сверхмалые наночастицы исчезали, доля наночастиц диаметром 5–10 нм уменьшалась до 24%, основное содержание было представлено наносферами 10–20 нм, спустя 60 минут появлялись наночастицы размером 25–30 нм. Все наночастицы были мономорфны и представлены сферами. Более длительное инкубирование (>60 минут) приводило к слипанию наночастиц и образованию конгломератов (рис. 2).

При инкубировании культуральной жидкости 14-суточной культуры *L. edodes* с HAuCl_4 в течение 30 минут наблюдалось образование сферических наночастиц большего размера по сравнению с фильтратом 7-суточной культуры. Содержание наночастиц (5–10 нм) при инкубировании с фильтратом 7-суточной культуры составляло 23% и уменьшалось при использовании фильтрата 14-суточной культуры до 14%. Количество наночастиц размерами 10–15 и 15–20 нм, наблюдаемых в большом количестве в первом случае, уменьшалось во втором случае в 2 и 4 раза, соответственно, за счет увеличения количества наносфер диаметром 25–40 нм. Средний размер наносфер при использовании более возрастной культуры увеличивался с 10 до 30 нм, наночастицы были мономорфны и представлены сферами (рис. 3).

При инкубировании культуральной жидкости 14-суточной культуры *L. edodes* с AgNO_3 наблюдалось образование наночастиц неправильной сферической формы. При инкубировании в течение 30 минут диаметр наночастиц варьировал от 10 до 100 нм, со значительным содержанием наносфер 20–30 нм. По сравнению с фильтратом 7-суточной культуры при равном времени инкубации, образованные наночастицы были больше по размеру (в среднем 35 нм) и менее однородны, с тенденцией к слипанию (рис. 4).

Биогенные наночастицы благородных металлов исследовали на цитотоксичность с помощью МТТ-теста [7]. В качестве объектов исследования были использованы животные клетки линий Vero (африканская зеленая мартышка, эпителий почки). Биообразованные наночастицы золота обладали полным отсутствием

токсичности по отношению к животной клеточной линии Vero. Для клеток, инкубированных 24 часа с наночастицами золота, снижение жизнеспособности по сравнению с контролем не наблюдалось. Среднее снижение дыхательной активности для диапазона концентраций от 1 до 100 мкг/мл при 48 часах инкубирования составило около 20%, что говорит о дозозависимом характере проявленной токсичности в пределах исследуемых концентраций. Выраженное токсическое действие биообразованных наночастиц серебра по отношению к клеточной линии Vero при инкубировании в течении 24 и 48 часов начиналось с концентрации 8,5 мкг/мл.

Таким образом, предложен экологически безопасный простой и доступный способ синтеза наночастиц благородных металлов с помощью бесклеточного фильтра нетоксичного и непатогенного культивируемого съедобного и лекарственного базидиального макромицета *L. edodes*, позволяющий получить наночастицы серебра и золота требуемого размера и формы, изменяя

возраст культуры и время инкубации. Получаемые наночастицы мономорфны, не требуют дополнительной сортировки и легко отделяются от инкубационной смеси путем центрифугирования.

Список литературы

1. Dreaden E.C. et al. Chem. Soc. Rev. 2012. V. 41. P. 2740–2779.
2. Dykman L. and Khlebtsov N. Chem. Soc. Rev. 2012. V. 41. P. 2256–2282.
3. Austin L.A. et al. Arch. Toxicol. 2014. V. 88. P. 1391–1417.
4. Sharma V.K. et al. Adv. Colloid. Interface. Sci. 2009. V. 145. P. 83–96.
5. Gade A. et al. Biotechnol. Lett. 2010. V. 32. P. 593–600.
6. Dhillon G.S. et al. Crit. Rev. Biotechnol. 2012. V. 32. P. 49–73.
7. Niks M., Otto M. J. Immunol. Meth. 1990. V. 130, № 1. P. 149–151.

БИОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ

Зайнитдинова Л.И., Бахтиерова М.С., Куканова С.И.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

В последние годы большой интерес проявляется к зеленому синтезу наночастиц металлов и, особенно, с использованием микроорганизмов. По сравнению с бактериями, микромицеты могут быть использованы в качестве источника для производства большого количества наночастиц. Ввиду значительной устойчивости и способности к биоаккумуляции металлов изучение способности микроскопических грибов к биосинтезу наночастиц металлов набирает все больший интерес. Это связано с тем, что грибы образуют большие количества белков, что непосредственно способствует более высокой продуктивности в отношении образования наночастиц. Ранее нами был проведен скрининг различных родов грибов из коллекции микроорганизмов Института микробиологии АН РУз по способности синтезировать наночастицы серебра [1]. Установлено, что многие представители микромицетов являются чрезвычайно эффективными продуцентами наночастиц серебра. Причем, биосинтез наночастиц грибами происходит как внутриклеточно, так и вне клетки на поверхности клеточной стенки, а также в культуральной жидкости грибов.

Из изученных нами микромицетов внеклеточный синтез наночастиц серебра наблюдался у штамма *Fusarium oxysporum* 13. Также нами показано, что данный гриб обладает способностью синтезировать наночастицы меди в присутствии сульфата меди, что открывает большие возможности, т. к. наночастицы меди, как и наночастицы серебра обладают ярко выраженным бактериостатическим и бактериоцидным действием. Кроме того, наномедь обладает более низкой токсичностью, чем наносеребро [2], что дает возможность использовать ее вместо наночастиц благородных

металлов. Многие из продуцентов наночастиц серебра способны к биосинтезу и наночастиц других металлов такой полифункциональной особенностью обладает и *Fusarium oxysporum*. Известно, что *F. oxysporum* обладает широким спектром в отношении синтеза наночастиц различных металлов [3].

Чувствительность патогенных и непатогенных микроорганизмов к воздействию ионов серебра неравноценна. Наибольшей чувствительностью обладают именно патогенные микроорганизмы, что говорит об избирательном действии наночастиц (4). Нами исследована антимикробная активность полученных наночастиц серебра, синтезированных штаммом *F. oxysporum* в отношении условно патогенных микроорганизмов *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. Показано, что НЧ серебра обладали антимикробной активностью в отношении всех изученных культур, при концентрации от 75 до 100 мг/л, при этом зона подавления роста составляла от 15 до 30 мм.

Все эти данные свидетельствуют о большом потенциале данного гриба и его возможностях для использования в нанотехнологии.

Список литературы

1. Zaynitdinova L., Vokhidova N., Tashpulatov J., Kukanova S., Ashurov N., Juraeva R.. Microorganisms-producers of nanoparticles of silver. // Journal of Nanoscience and Nanoengineering. 2017. vol. 3, № 1. pp. 1–5.
2. Bansal, V., Rautaray, D., Ahmad, A., Sastry, M. Biosynthesis of zirconia nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. //Journal of Materials Chemistry. 2004. 14(22): 3303–3305.

- Cristiano José de Andrade, Lidiane Maria de Andrade, Maria Anita Mendes Claudio Augusto Oller do Nascimento. Overview on the Production of Microbial Copper Nanoparticles by Bacteria, Fungi and Algae. // Global Journal of Researches in Engineering: Chemical Engineering. 2017. Vol. 17. Issue 1., Version 1.0. С. 27–33.
- Букина Ю.А., Сергеева Е.А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра. // Вестник Казанского технологического университета. 2012. № 14. С. 170–172.

АЗАФИЛОНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГРИБА *ASPERGILLUS CAVERNICOLO*

Желифонова В.П., Антипова Т.В., Баскунов Б.П., Козловский А.Г.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН им. Г.К. Скрыбина — обособленное подразделение Пушчинский научный центр биологических исследований РАН

Азафилоновые соединения, продуцируемые грибами рода *Monascus*, традиционно используются для получения пищевых добавок и натуральных красителей в странах Юго-Восточной Азии. Эти метаболиты, как правило окрашенные, по спектрам поглощения традиционно классифицируются как красные, оранжевые и желтые пигменты. В настоящее время у *Monascus* идентифицировано около сотни различных азафилоновых соединений [1]. Для многих из них показаны антиоксидантные, гипотензивные, противовоспалительные, антимикробные, противоопухолевые и другие свойства [2]. Так, исследование монаспурпиридина А показало, что это соединение индуцирует апоптоз клеток рака груди MCF-7 [3]. Несколько подобных пигментов были обнаружены у грибов рода *Penicillium*, *Talaromyces* и др. [4]. Для вида *Aspergillus cavernicola* (= *A. amylovorus*) известно продукция азафилоновых пигментов темно-красного цвета монаскорубраминовой природы [5]. Недавно у штамма *A. cavernicola* ВКМ F-906 был идентифицирован новый азафилон [6] близкий по структуре к монасникатинам и монаспурпиридину А, известным у *Monascus* [7]. Новое соединение из *A. cavernicola*, монасникотиновая кислота (МНК), отличалась по структуре наличием карбоксильной группы и другим алкильным фрагментом от монасникатинатов и монаспурпиридина А. Возможно, что темно-красный пигмент из *A. cavernicola* также отличается по структуре от красных пигментов *Monascus*. Биосинтез азафилоновых пигментов хорошо изучен у грибов рода *Monascus* [1]. Известно, что у *Monascus* природа источника азота в питательной среде может влиять на спектр синтезированных азафилоновых соединений. Благодаря структурным особенностям, наличию в нем пиридинового кольца, карбоксильной группы, монасникотиновой кислоты интересна для изучения биологической активности, а также для получения различных производных. Поэтому подбор оптимальных компонентов среды для образования МНК имеет большое значение для ее получения.

Цель работы — идентификация красного пигмента и изучение влияния источника азота в питательной среде на биосинтез азафилоновых метаболитов грибом *A. cavernicola*.

Объектом исследования служил штамм *A. cavernicola* ВКМ F-906, полученный из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) ИБФМ РАН. В работе использовали синтетическую среду с разными

источниками азота — NH_4^+ или NO_3^- . Концентрация углеродных субстратов (маннита и сукцината) и минеральных компонентов в средах была одинакова. Гриб культивировали в условиях как описано в работе [6].

МНК и красный пигмент (КП) извлекали из фильтрата культуральной жидкости трехкратной экстракцией хлороформом при pH 3, а из промытого мицелия смесью хлороформ : метанол (1:1). Анализ экстрактов осуществляли методом ТСХ на пластинках силикагеля. КП обнаруживали в видимом свете, а МНК после опрыскивания пластин реактивом Эрлиха (сиреневое окрашивание). Количество МНК и КП в пробах определяли спектрофотометрически, после препаративной ТСХ, в метаноле при 254 и 416 нм соответственно, используя соответствующие калибровочные кривые.

Изучение метаболитов, синтезированных *A. cavernicola* в среде с NH_4^+ , показало, что в культуральной жидкости преобладали МНК и КП, а желтые и оранжевые пигменты присутствовали в незначительных количествах. В мицелии эти метаболиты отсутствовали. Физико-химические характеристики КП отличались от значений, известных для красных азафилоновых пигментов монаскорубрамина и рубропуктамина из *Monascus* [1]. КП при pH 2,5 имел УФ-спектр с полосами поглощения при λ_{max} 250, 293, 416 и 511 нм. Его масс-спектр характеризовался молекулярными ионами с m/z 340 $[\text{M}+\text{H}]^+$ и m/z 338 $[\text{M}-\text{H}]^-$, что указывало на молекулярную массу 339 Да. Нечетная молекулярная масса КП, как же как и у МНК (329 Да) свидетельствовала о наличии атома азота в структуре КП.

При изучении влияния источников азота в среде на продукцию МНК и КП грибом *A. cavernicola* было показано, что в среде с NH_4^+ в спектре преобладала МНК: в конце культивирования в пробах отношение МНК к КП составило 4,5:1. В среде с нитратом, синтезировались только оранжевые и желтые пигменты, а образование МНК и КП не происходило. Появление КП наблюдали после 20 ч инкубации фильтрата культуральной жидкости с 3,5 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ или D,L-орнитина. При продолжении опыта в пробах МНК не идентифицировалась. Возможно, что у *A. cavernicola* КП синтезируется путем нуклеофильного присоединения аминокрупп к атому кислорода азафилонового кольца оранжевых пигментов, как у *Monascus*. По-видимому, для образования МНК требуются другие условия.

Концентрация углеродного субстрата оказало влияние на продукцию МНК и КП грибом *A. cavernicola*.

Так в среде с NH_4^+ , содержащей 20 или 70 г/л маннита, максимальное накопление МНК было в 7,9 и 1,8 раза, а КП в 3,2 и 3,4 раза ниже, соответственно, по сравнению со средой, содержащей 50 г/л маннита. Максимальная концентрация МНК и КП в среде с 50 г/л маннита и составляла 364 и 81 мг/л соответственно.

Динамика роста гриба в среде с двумя углеродными субстратами (сукцинатом и маннитом) характеризовалась диауксией со второй лаг-фазой на 5 сут. роста. Метаболиты идентифицировались в среде с 3 сут. роста гриба. Интенсивный биосинтез КП и МНК наблюдался в фазы активного роста гриба на сукцинате и маните. Во вторую лаг-фазу происходило падение в 3.5 раза концентрации КП и снижение удельной скорости биосинтеза МНК на 25%. При возобновлении роста гриба на манните концентрации КП и МНК возрастали и достигли максимальных значений в разное время: КП к началу стационарной фазы (10 сут.), а МНК в стационарную фазу (13 сут.). К 14 сут. культивирования наблюдалось снижение в 1.5 раза концентраций КП и МНК по отношению к максимальным значениям. Следует отметить, что это снижение не связано с исчерпанием NH_4^+ в среде. В процессе роста гриба в метаболоме увеличивалась доля МНК, которая достигла максимума в стационарную фазу роста.

Таким образом, показано, что физико-химические характеристики КП *A. cavernicola* отличались от значений, известных для красных азафилоновых пигментов *Monascus*. Благоприятным источником азота для образования МНК и КП *A. cavernicola* является аммоний, а нитрат полностью ингибировал их биосинтез. Подобрана оптимальная концентрация маннита для образования МНК.

Список литературы

1. Chen W., Chen R., Liu Q. et al. // Chem. Sci 2017. V. 8. P. 4917–4925. doi: 10.1039/c7sc00475c.
2. Patakova P. // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2013. V. 40. P. 169–181.
3. Hsu L.C., Hsu Y.W., Liang Y.H. et al. // Molecules. 2012. P. 17. P. 664–673. doi: 10.3390/molecules17010664
4. Lebeau J., Venkatachalam M., Fouillaud M. et al. // J. Fungi. 2017. V. 3. 34. doi:10.3390/jof3030034
5. Samson R.A., Varga J., Meijer M. et. al. // Studies in Mycology. 2011. V. 69. P. 81–97. doi: 10.3114/sim.2011.69.06
6. Antipova T.V., Zaitsev K.V., Zhrebker A.Ya. et. al. // Mendelev Communication. 2018. V. 28. P. 55–57.
7. Wu M.-D., Cheng M.-J., Yech Y.-J. et. al. // Molecules. 2011. V. 16. P. 4719–4727.

Глава 13.

Культивируемые съедобные и лекарственные грибы

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.13

ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕКЦИИ ШИИ-TAKE (*LENTINULA EDODES*) ПРИ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Богдаев А.Г., Ткачева М.Н.

Воронежский государственный университет

Разработка приемов селекции шии-таке в условиях *in vitro* при низких положительных температурах проводилась на протяжении 10 лет. Процесс был нацелен на создание штаммов шии-таке, пригодных для промышленного культивирования и может быть разделен на 3 этапа:

1) определение параметров производства блоков и условий их культивирования, имеющих первостепенное значение для получения промышленного урожая шии-таке;

2) выявление штаммов физиологические характеристики, которых способны соответствовать параметрам культивирования определяемым, как промышленные. Например, способность к формированию однородной по толщине поверхностной мицелиальной пленки, покрывающей субстратный блок;

3) отбор линий шии-таке с перспективными характеристиками в условиях культивирования при низких положительных температурах (от 0,5 до 6,0 °С).

По результатам рекогносцировочных работ было установлено, что периодом наиболее интенсивного сочетания вегетативных форм размножения шии-таке с генеративным способом размножения является зим-

ний сезон, характеризующийся низкими положительными температурами для условий природной экологической зоны шии-таке. Т. о., наиболее интенсивный обмен генетическим материалом осуществляется в микроклиматических условиях зимнего периода, который предшествует весеннему периоду интенсивной колонизации новых экологических ниш с сопровождающимся стабильным повышением температур. Отмечено, что низкотемпературное культивирование *in vitro* формирует условия при которых существенно снижается расход энергоресурсов грибных тканей на транспирацию, дыхание, процессы питания и иную физиологическую активность. Это позволяет в условиях эксперимента более контрастно выделить различия, как морфологического так и физиологического характера, которые сложно фиксируются при развитии образцов шии-таке в традиционных условиях культивирования, что объясняется высокой динамичностью циклических обменных процессов у базидиомицетов.

Разработанные приемы селекции в условиях *in vitro* позволили получить штамм шии-таке «D 2», успешно прошедший сортоиспытание в промышленных условиях.

СКРИНИНГ КУЛЬТУР БАЗИДИАЛЬНЫХ КСИЛОТРОФОВ — ПРОДУЦЕНТОВ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Демченко С.И., Загнитко Ю.П., Чайка А.В.

ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», Донецк

Быстрое накопление биомассы и продуцирование биологически активных веществ, в том числе и ферментов различного спектра действия, сделали грибы важными объектами биотехнологии. По количеству и продуктивности энзимов базидиальные ксилотрофы можно поставить на один уровень с микроорганизмами, применяемыми в медицине, сельском хозяйстве, разных отраслях промышленности [1]. Поэтому актуальным является интродукция дереворазрушающих грибов в культуру и создание в коллекции штаммового разнообразия, что позволит провести скрининг активных продуцентов плодовых тел и метаболитов,

перспективных для биотехнологического использования.

В настоящее время в коллекции мицелиальных культур макромицетов кафедры физиологии растений ДонНУ поддерживается 150 штаммов 23 видов базидиальных ксилотрофов, относящихся к порядкам Polyporales и Agaricales [2]. Подавляющее большинство штаммов (88%) выделено в чистую культуру из дикорастущих плодовых тел грибов, собранных в лесных биогеоценозах Донбасса. В коллекции также сохраняются промышленно культивируемые штаммы зарубежной селекции съедобных грибов *Lentinus edodes*, *Flammulina*

velutipes, рода *Pleurotus*. Эти грибы используют как продукты питания и источники получения лекарственных препаратов [3].

Ежегодно коллекция мицелиальных культур базидиальных ксилотрофов пополняется гибридами *Pleurotus ostreatus*, которые авторы работы получают способом межштаммового скрещивания гаплоидных мицелиев, гетероаллельных по *mat*-локусам. Сотрудниками кафедры физиологии растений ДонНУ предложена и апробирована схема селекции новых высокопродуктивных штаммов вешенки обыкновенной с использованием молекулярных маркеров. Отобранные гибриды *P. ostreatus* донецкой селекции с хозяйственно-ценными признаками прошли апробацию на производствах с различным способом обработки субстрата и условиями культивирования.

Дефицит сычужного фермента — реннина, который получают из передней доли желудка молочных ягнят и телят и используют для свертывания белков молока в производстве сыров, стимулирует поиск заменителей сычужного фермента. Авторами работы установлено, что некоторые базидиальные ксилотрофы являются активными продуцентами протеиназ сычужного действия, которые по своим свойствам не уступают ферментам животного происхождения. Наиболее активными продуцентами ферментов молокосвертывающего действия являются культуры грибов *Schizophyllum commune*, *Irpex lacteus*, *Fomitopsis pinicola*, *Hirschioporus laricinus* и др.

Одним из перспективных направлений современной биотехнологии является разработка методов получения новых лекарственных препаратов. Для нужд тромболитической терапии наиболее перспективным считается применение ферментных препаратов грибного происхождения. Авторами работы из культуральной жидкости гриба-ксилотрофа *Irpex lacteus* выделен фибринолитический препарат широкого спектра действия. Он гидролизует фибрин, фибриноген, казеин, желатин, тромбин. В отличие от аналогов микробиологического синтеза, данный ферментный препарат не ингибируется компонентами плазмы крови и не является токсичным.

Активное развитие в Донецком регионе перерабатывающей промышленности, основанной на использовании растительного сырья, привело к накоплению огромного количества твердых органических отходов, которые стали серьезным фактором загрязнения окружающей среды. Некоторые из этих отходов являются относительно устойчивыми к микробному разложе-

нию. Это объясняется высоким содержанием трудно разлагаемого компонента — лигнина и низким содержанием белка. Наиболее эффективными деструкторами лигнина считаются базидиомицеты, вызывающие белую гниль древесины [4]. Авторами работы проводятся исследования, направленные на изучение механизмов расщепления лигнина ксилотрофными базидиомицетами, поскольку познание этих механизмов может открыть пути для разработки экологически чистых, энергосберегающих биотехнологий переработки лигноцеллюлозного сырья. Общеизвестно, что деструкция основных компонентов древесины — целлюлозы и лигнина — происходит в природе под действием внеклеточных ферментов грибов-ксилотрофов [5]. На жидких питательных средах в глубинной культуре проведен отбор активных продуцентов ферментов лигнолитического комплекса среди коллекционных штаммов дереворазрушающих грибов. Наибольшая лигнолитическая активность выявлена у штаммов *Irpex lacteus* C-13, *Fomes fomentarius* Ff-14 и *Trametes versicolor* Tv-11-11. Для этих штаммов оптимизированы условия культивирования, установлен компонентный состав питательных сред, благоприятный для роста мицелия и синтеза ферментов, участвующих в биодеструкции лигнина.

Список литературы

1. Заикина Н.А., Коваленко А.Е., Галынкин В.А., Дьяков Ю.Т., Тищенко А.Д. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. пособие. — СПб: Проспект Науки, 2007. — 336 с.
2. Федотов О.В., Чайка О.В., Волошко Т.Є., Велигодська А.К. Колекція культур шапинкових грибів — основа мікологічних досліджень та стратегії збереження біорізноманіття базидіомицетів // Вісник Донецького національного університету. Серія А: природничі науки. — 2012. — № 1. — С. 209–213.
3. Сычев П.А., Ткаченко Н.П. Грибы и грибоводство. — М.: ООО «Изд-во АСТ»; Донецк: Изд-во «Сталкер», 2003. — 512 с.
4. Дьяков Ю.Т. Введение в альгологию и микологию. — М.: Изд-во МГУ, 2000. — 192 с.
5. Демченко С.И., Дейнеко О.И., Швиндина Е.С. Лакказная и плодообразовательная активность гибридных штаммов гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. // Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона. — 2018. — № 3–4. — С. 114–121.

РОЛЬ РОССИЙСКИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ В ИЗУЧЕНИИ
ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБНОГО СЫРЬЯ — ЧАГИ

Денисова Н.П.¹, Баландайкин М.Э.², Белова Н.В.¹, Бондарцева М.А.¹, Змитрович И.В.¹,
Переведенцева Л.Г.³, Перелыгин В.В.⁴, Яковлев Г.П.^{1,4}

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

²Ульяновский государственный университет;

³Пермский государственный национальный исследовательский университет;

⁴Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

Чага (березовый гриб) представляет собой продукт взаимодействия мицелия базидиального гриба *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát (*Hymenochaetales*, *Agaricomycetes*) и каллусной ткани живых деревьев преимущественно порядка *Fagales*. Лекарственные свойства чаги издавна известны в народной медицине Урала, Сибири, северных районов европейской территории России, однако в поле зрения отечественных клиницистов и практических врачей (Ф.И. Иноземцев, Э. Фробен, А. Фурхт, И.И. Лапин, С.А. Смирнов) сырье чаги попало во второй половине XIX в. в связи с положительными результатами использования отвара березового гриба в терапии злокачественных новообразований [1].

С 1959 г. комплексное изучение чаги начинается в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова АН СССР в сотрудничестве с 1-м Ленинградским медицинским институтом им. И.П. Павлова. Эти исследования включали такие направления как биология и анатомия возбудителя чаги [2,3], ее ресурсный потенциал [4], химическое изучение грибного сырья [5–7], экспериментальное изучение сырья чаги на простейших и позвоночных животных [8,9] и клинические испытания чаги с вовлечением больных с распространенным опухолевым процессом [10–12]. Проведенные клинические испытания констатировали улучшение общего состояния больных, нормализацию показателей крови и лимфатической системы, снижение болевого синдрома. Однако химические исследования тех лет позволяли идентифицировать полифенолы и полисахариды, оказывающие общее иммуномодулирующее действие и хемосорбцию, и не позволяли выявить вещества адресного действия.

Полученные результаты трактовались осторожно: чагу предлагали рассматривать как общеукрепляющее и, возможно, онкопревентивное средство и рекомендовали использование сырья в качестве вспомогательного при лечении широкого спектра желудочно-кишечных заболеваний. В описанном качестве чага была включена в Государственную фармакопею СССР [12] и рекомендована к применению как неспецифическое лекарственное средство для лечения гастритов, язвы желудка, полипозов, предраковых заболеваний и некоторых форм злокачественных опухолей в случаях, когда не показаны лучевая терапия и хирургическое вмешательство. Рекомендованное применение — в виде настоя (*Infusum fungus betulinus*), таблеток и препарата «Бефунгин» (*Befunginum*): полугустого экстракта из грибных наростов с добавлением 0,175% кобальта хлорида (или 0,2% кобальта сульфата).

В конце 1960-х годов на Западе издается роман А.И. Солженицына «Раковый корпус» [13], в котором автор в частности основательно излагает опыт лечения липосаркомы желудка сочетанием лучевой терапии и во-

дными экстрактами чаги. Не исключено, что широкое распространение этого произведения вызвало в мире интерес к исследованию чаги, в то время как после внедрения в производство препарата «Бефунгин» активность отечественных коллективов, изучающих чагу, пошла на спад.

Интерес отечественного научного сообщества к проблеме лекарственных грибов и чаги в частности возродился в конце 1990-х годов [14–17].

М.А. Сысоевой с сотрудниками проведены комплексные исследования золя водного извлечения чаги [19–22], осуществлена сравнительная характеристика антиоксидантной активности водных и спиртовых извлечений бесплодных наростов, произведено разделение водных извлечений стерильного мицелия гриба с использованием этилацетата, предложены методы повышения антиоксидантной активности водных извлечений и меланинов чаги.

С 2007 г. за рубежом начинается серия экспериментов с ключевым биологически активным веществом чаги — инотодионом [23], оказывающим выраженное антипролиферативное и проапоптотическое действие. С этого момента информация о лекарственных испытаниях чаги стала быстро накапливаться [24–26].

К сожалению, авторы, изучающие состав чаги, не принимают во внимание и не рассматривают биологические и химические особенности древесного растения, на котором гриб формирует стерильные наросты. Механизм защитных реакций у растений довольно сложен и имеет большое значение во взаимоотношениях возбудителя болезни с питающим растением. Среди факторов, определяющих защитные реакции растений, ведущая роль принадлежит химическим особенностям гриба и растения-хозяина. Химический же состав всех названных древесных пород различается значительно. В большинстве видов берез присутствуют гликозиды, флавоноиды, стеролины, эфирные масла, танины и витамины, содержание в коре биологически активного тритерпеноида бетулина в зависимости от вида варьирует от 7 до 44% [27]. Растения рода *Alnus* содержат терпеноиды, флавоноиды, диарилгептаноиды, фенолы, стероиды и танины [28]. Состав лигноцеллюлозного комплекса древесины всех названных растений также различается. Несомненно, что все эти различия, в свою очередь, приводят к разнообразию грибных метаболитов в составе мицелия в качестве результата взаимодействия гриба и питающего древесного растения. Как известно, чага характеризуется значительным содержанием меланинов. В биосинтезе меланинов принимают участие лакказы и тирозиназы, окислительные ферменты, высокая активность которых отмечена для мицелия ряда лигнотрофных базидиомицетов, подобных *I. obliquus* [16].

В целом можно констатировать, что к настоящему времени чага относится к числу хорошо изученных лекарственных грибов. Ее спецификой является обилие растворимых в воде полифенольных соединений и стеролов, определяющих высокий сорбционный потенциал (поглощение циркулирующих лигандов, в том числе медиаторов опухолевой прогрессии), мягкое проапоптотическое и иммуномодулирующее действие. Представляют интерес дальнейшие клинические испытания действия чаги в сочетании с традиционными методами лекарственной и лучевой терапии злокачественных новообразований. Отдельного исследования заслуживает паллиативное лечение с использованием этого перспективного в онкотерапии сырья [29].

Список литературы

1. Булатов П.К., Березина М.П., Якимов П.А. Чага, ее свойства и применение при раке IV стадии // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 7–22.
2. Низковская О.П. К биологии возбудителя чаги на березе // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 32–35.
3. Слепян Э.И. Особенности патологических изменений в строении ствола *Betula verrucosa* Ehrh. при развитии на нем гриба *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. // П.А. Якимов и др. (ред.). Комплексное изучение физиологически активных веществ низших растений. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961. С. 18–32.
4. Мильберг Г.К. Организация производства лечебного препарата из чаги // П.А. Якимов и др. (ред.). Комплексное изучение физиологически активных веществ низших растений. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961. С. 268–276.
5. Шиврина А.Н., Ловягина Е.В., Платонова Е.Г. О химическом составе чаги // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 55–61.
6. Кузнецова Г.А. Химия пигментов чаги // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 85–89.
7. Платонова Е.Г. Характеристика воднорастворимых углеводных комплексов чаги и некоторых других трутовиков // П.А. Якимов и др. (ред.). Комплексное изучение физиологически активных веществ низших растений. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961. С. 63–69.
8. Кроткина Н.А. Влияние чаги на перевиваемые опухоли у крыс // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 114–118.
9. Скворцов С.С. Влияние чаги на простейших // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 141–142.
10. Березина М.П. Физиологические исследования больных раком IV стадии во время лечения чагой // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 143–159.
11. Булатов П.К. Клинические наблюдения больных раком IV стадии при лечении чагой // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 261–270.
12. Яцкевич В.В. Показатели периферической крови у больных раком IV стадии при лечении чагой // П.К. Булатов и др. (ред.). Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Медгиз, 1959. С. 313–317.
13. Солженицын А.И. Раковый корпус: повесть в 2 ч. London: The Bodley Head, 1968. 425 p.
14. Денисова Н.П. Лечебные свойства грибов. Этномикологический очерк. СПб: Изд-во СПбГМУ, 1998. 59 с.
15. Переведенцева Л.Г. Лекарственные грибы Пермского края. Пермь: Проектное бюро “Рейкьявик”, 2011. 146 с.
16. Белова Н.В. О необходимости изучения биологии и биохимической активности *Inonotus obliquus* // Микология и фитопатология. 2014. Т. 48, № 6. С. 401–403.
17. Баландайкин М.Э. Биоэкологические особенности влияния ксилотрофного базидиального макромицета (факультативного сапротрофа) *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. на березовые насаждения. Дисс. ... канд. биол. наук. Ульяновск, 2015. 421 с.
18. Змитрович И. В. Метаболиты базидиальных грибов, эффективные в терапии рака и их молекулярные мишени: Обзор // Вестник Пермского университета. Биология. 2015. Вып. 3. С. 264–286.
19. Сысоева М.А. [и др.] Разделение водных извлечений чаги с использованием этилацетата. I. Антиоксидантная активность // Химия растительного сырья. 2007. № 4. С. 101–104.
20. Сысоева М.А. [и др.] Разделение водных извлечений чаги с использованием этилацетата. II. Парамагнитные свойства хромогенов чаги // Химия растительного сырья. 2007. № 4. С. 105–109.
21. Сысоева М.А. [и др.] Разделение водных извлечений чаги с использованием этилацетата. III. Состав липидов, отделяемых из водного извлечения чаги этилацетатом // Химия растительного сырья. 2008. № 1. С. 111–114.
22. Сысоева М.А. [и др.] Разделение водных извлечений чаги с использованием этилацетата. IV. Состав веществ фенольной и терпеновой природы, отделяемых из водного извлечения чаги этилацетатом // Химия растительного сырья. 2009. № 4. С. 117–122.
23. Zheng W.F., Liu T., Xiang X.Y., Gu Q. Sterol composition in field-grown and cultured mycelia of *Inonotus obliquus* // Yao Xue Xue Bao. 2007. Vol. 42, N 7. P. 750–756.
24. Jiang J.H., Dou Y., Feng Y.J., Bondartseva M.A., Gao T.H., Chen F.M. The anti-tumor activity and MDR reversal properties of constituents from *Inonotus obliquus* // Микология и фитопатология. 2007. Vol. 41, № 5. P. 455–460.
25. Zhong X.H., Ren Kuang, Lu S.J., Yang S.Y., Sun D.Z. Progress of research on *Inonotus obliquus* // China J. Integr. Medicin. 2009. Vol. 15, N 2. P. 156–160.
26. Balandaykin M.E., Zmitrovich I.V. Review on Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes): realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential // International Journal of Medicinal Mushrooms. 2015. Vol. 17, N 2. P. 95–104.

27. Krasutsky P.A. Birch bark research and development // Natural Product Reports. 2006. Vol. 23, N 6. P. 919–942.
28. Sati S.C., Sati N., Sati O.P. Bioactive constituents and medicinal importance of genus *Alnus* // Pharmacognosy Review. 2011. Vol. 5, N10. P. 174–183.
29. Zmitrovich I.V., Belova N.V., Balandaykin M.E., Bondartseva M.A., Wasser S.P. Cancer without pharmacological illusions and a niche for mycotherapy (Review) // International Journal of Medicinal Mushrooms. 2019. Vol. 21, N 2. P. 105–119.

ПРЕПАРАТ GIL-МУКО НА ОСНОВЕ БИОМАССЫ *LENTINUS EDODES* CNMN-FB-01

Дворнина Е.Г.

Институт микробиологии и биотехнологии, Кишинев, Молдова

Рациональное использование экологических ресурсов, отводит важную роль ксилотрофным грибам, как ее естественной составляющей. Грибы могут оказать серьезное влияние на наше будущее не только из-за их способности разрушать органические вещества в природе и, следовательно, ускорить углеродный цикл, но и все больше из-за их роли в качестве ценного биологического ресурса в биодegradации, в биологическом контроле, перерабатывающих процессах, а также в качестве продуцентов белковой биомассы с высокими питательными и лечебными свойствами [1]. Особенное место отводится лекарственным грибам, в том числе *L. edodes*, которые сегодня находят все большее практическое применение.

L. edodes является лекарственным грибом с широким применением в современной биотехнологии. Это второй по популярности съедобный гриб на мировом рынке, благодаря не только его питательной ценности, но и возможному потенциалу для терапевтических применений.

Растущее коммерческое, медицинское и экологическое значение *L. edodes* стимулирует интерес ученых к изучению этого ценного лекарственного базидиомицета, обладающего иммуномодулирующими, противоопухолевыми, гиполипидемическими, гипогликемическими, противовирусными и другими свойствами [2].

С этой целью нами была исследована биомасса гриба *L. edodes* CNMN-FB-01 на наличие в ней биологической активности, а также на возможность получения препарата с лечебно-профилактическим эффектом [3,4]. Биомасса *L. edodes* CNMN-FB-01 была получена глубинным способом за короткий период времени — 120 часов, обладала ярко выраженным грибным ароматом, имела вид мелких, компактных, гладких шариков диаметром от 0,5 до 1,0 мм. Такая форма биомассы высоко технологична, представляет большой интерес для промышленной ее переработки, поскольку имеет определенные преимущества при сепарации. Биомасса легко отделялась от культуральной жидкости, затем тщательно промывалась.

Был изучен биохимический состав биомассы гриба *L. edodes* CNMN-FB-01, полученной на оптимизированной нами ранее питательной среде. При оценке безвредности полученной биомассы, такие элементы, как свинец и ртуть обнаружены в ней не были. Исследование содержания сырого протеина и белка в динамике синтеза биомассы *L. edodes* CNMN-FB-01 на жидкой питательной среде позволило установить высокое со-

держание общего протеина в биомассе на стадии активного роста 48,4% а истинного белка 40,3% на сухую массу (на 24–48 ч), а при снижении активности синтеза биомассы (на 72–96 ч) снижение содержания общего протеина с 47,9 до 33,5%. При исследовании аминокислотного состава в белковой фракции биомассы *L. edodes* CNMN-FB-01, было установлено 16 аминокислот. В общей сумме аминокислот были выявлены незаменимые: лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, тирозин, треонин. Сумма незаменимых аминокислот составила 21,4 г/100г сухой массы грибного порошка. Значительный процент из суммы незаменимых аминокислот приходится на долю лейцина — 5,2, изолейцина — 4,3, фенилаланина — 3,5г/100 г сухой массы грибного порошка. Среди незаменимых аминокислот в грибной биомассе *L. edodes* CNMN-FB-01 получено высокое содержание ароматических аминокислот: фенилаланина и тирозина, что обуславливает ее специфический вкус и аромат. В биомассе мы установили наличие витаминов группы В: рибофлавин, пантотеновую кислоту, пиридоксин; группы РР: никотиновая кислота, из которых более высокая доля приходится на пантотеновую и никотиновую кислоты, составившие 228,4–115,4 мкг/г абсолютно сухой массы, соответственно. В биомассе *L. edodes* CNMN-FB-01 содержание липидов составило 3,3%, процент клетчатки — 4,84%.

Содержание сахаров в лиофилизате *L. edodes* CNMN-FB-01 определяли антроновым методом (5). В процессе синтеза, гексозы, дегидратируясь в присутствии концентрированной серной кислоты, конденсируются с антроном, давая соединение, окрашивающее раствор в синий цвет. Установлено, что общее содержание сахаров в лиофилизате составляет 33% на абсолютно сухой вес, а мажорным компонентом организованных (полимерных) сахаров исследуемой биомассы является манноза.

Хроматографический анализ показал, что:

- Si-1 не содержит свободные сахара в пределах, детектируемых методом ТСХ.
- Проба Si-2 содержит большое количество маннозы, что согласуется с литературными данными [6,7].
- Гидролизат лиофилизата содержит быстроидущие не идентифицируемые сахара с Rf, превышающие Rf ксилозы.

Из моносахаридов в свободном виде найдены глюкоза, фруктоза и сахароспирт — маннит. В продуктах гидролиза некоторых грибных полисахаридов были об-

наружены ксилоза, манноза, галактоза, рамноза и некоторые другие моносахара. Наиболее распространенным из них является глюкоза. Полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют о том, что штамм *L. edodes* CNMN-FB-01 — продуцент активного синтеза биомассы с экономическим коэффициентом, характеризующим способность продуцента превращать питательные вещества среды в биомассу, равным 0,95 г на 1 г использованной глюкозы, с наименьшей скоростью потребления питательных веществ среды — 0,033. Биомасса *L. edodes* CNMN-FB-01, полученная в условиях глубинной культуры, является продуктом биотехнологического процесса, имеет вполне сбалансированный химический состав, белок грибной биомассы содержит все незаменимые аминокислоты, что является основным показателем его пищевой ценности.

Из биомассы готовили грибной препарат GIL-муко, после ее предварительного высушивания при температуре до 60 °С. В результате высушивания гранулы грибной биомассы, в большей или меньшей степени, темнеют. Грибной аромат у высушенной мицелиальной биомассы выражен слабо, поскольку химические вещества, отвечающие за аромат, в значительной степени синтезируются и отделяются в культуральную жидкость, поэтому при сушке теряется часть летучих компонентов, определяющих грибной аромат.

Для получения грибного препарата высушенную биомассу измельчали. Известно, что измельчение грибных продуктов влияет на усвояемость их белка, что определяет пищевую ценность [7]. Был подобран фракционный состав грибного препарата с повышенной усвояемостью, пищевой ценностью, а также полидисперсностью.

С целью определения биологической активности грибного препарата GIL-муко, на основе биомассы *L. edodes* CNMN-FB-01, был выделен лентинан из его полисахаридных фракций по схеме, предложенной YAP and NG [8]. Согласно приведенной схеме, сухой порошок грибного препарата GIL-муко заливали горячей водой (70 °С), экстрагировали на кипящей водяной бане (100 °С). В экстракт добавляли 95°-ный этанол. В дальнейшем работали с осадком. Согласно схеме, замораживание осадка осуществляли жидким углеродом CO₂ до температуры — 76 °С в течение одного часа. Замороженную пробу лиофилизировали. В дальнейшем, лиофилизированный порошок экстрагировали кипящей водой (100°С). Для удаления нерастворимых частиц экстракт центрифугировали при 5000 об/мин. Полученный центрифугат отделяли от нерастворимых твердых частиц. Центрифугат осаждали 95°-ным этанолом. Повторное центрифугирование проводили при 3000 об/мин. Полученную жидкость опять лиофилизировали. В результате получали дисперсный порошок светло-кофейного цвета с прият-

ным запахом. Полученный порошок не растворим в холодной воде, кислоте, а также всех органических растворителях. Слегка растворим в горячей воде и диметилсульфоксиде. Растворим в водной щелочи и муравьиной кислоте. Устойчив против сильных кислот, но легко разрушается под действием щелочей при повышенной температуре.

В лентинане, как составной части выделенных полисахаридных фракций, установлено наличие 40,5% С, 7,02% Н, отсутствие азота, фосфора, серы и других элементов. Выделенный из грибного препарата GIL-муко лентинан, обработанный до состояния порошка включает в себя сумму полисахаридов, определяющих его биологическую активность, что согласуется с литературными данными [9]. Таким образом, биомасса *L. edodes* CNMN-FB-01, полученная при глубинном культивировании на оптимизированной нами питательной среде, может быть использована в качестве источника получения биологически активных веществ — компонентов для разработки препаратов и пищевых добавок лечебно-профилактического плана.

Список литературы

1. Lange L. The importance of fungi and mycology for addressing major global challenges. In: IMA Fungus, 2014, vol. 2, p. 463–71.
2. Ren L. Perera C., Hemar Y. Antitumor activity of mushroom polysaccharides: a review. In: Food and Function, 2012, nr. 11, p. 1118–1130.
3. Valeriu Rudic, Ala Dvornin, Elena Dvornin. Tulpina a ciupercii *Lentinus edodes*(Berk.)Sing.- producătoare de biomasă. Brevet de invenție MD 1947. BOPI nr. 6/2002.
4. Valeriu Rudic, Ala Dvornin, Elena Dvornin. Procedeu de obținere a biomasei ciupercii de *Lentinus edodes* (Berk.)Sing. Brevet de invenție MD 2171. BOPI nr. 5/2003.
5. Филиппович Ю.В. Практикум по общей биохимии. Москва: Просвещение, 1975, 241 с.
6. Aoki T. "Lentinan". In: Immune Modulation Agents and their Mechanisms. In: Immunology studies Fenichel, R.L. And Chirgis, M.A. (Eds.), 1984, Vol. 25, p. 62–77.
7. Hobbs Ch. Medicinal mushrooms: An exploration of tradition, healing and culture. In: Botanica Press. Santa Cruz. CA, 1995, p. 251.
8. Yap A-T., Ng, M-L.M. An improved method for the isolation of lentinan from the edible and medicinal shiitake mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (*Agaricomycetideae*). In: International Journal of Medicinal Mushrooms, 2005, Vol. 3, p. 6–19.
9. Smith J., Sullivan R., Rowan N. The Role of polysaccharides derived from medicinal mushrooms in cancer treatment programs: current perspectives. In: Inter. J. Medic. Mush., 2003, Vol, p. 2–19.

ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ДРОЖЖЕЙ *HANSENULA POLYMORPHA*

Эльдаров М.^{1,2}, Шеломов М.Д.^{2,3}, Л.Ю. Вэньсюэ⁴, Авданина Д.А.^{1,2}, Жгун А.А.^{1,2}, Чубарь Т.А.^{2,3},
Атрощенко Д.Л.^{1,2,3}, Тишков В.И.^{1,2,3}

¹ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва;

²ООО «Инновации и высокие технологии МГУ», Москва;

³Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова;

⁴Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

Оксидазы D-аминокислот — FAD-содержащие флавопротеины, катализирующие строго стереоспецифическое окислительное дезаминирование D-AA до соответствующих альфа кетокислот и аммиака. Ко-субстратом реакции является кислород, который превращается в пероксид водорода [1]. DAAO выполняют важные функции в живых организмах и находят широкое практическое применение в биотехнологии [2,3].

У человека DAAO выполняют сигнальные функции, участвуют в синтезе нейромедиаторов. Изменения активности DAAO и концентрации D-AA связано с патогенезом ряда заболеваний (шизофрения, болезни Альцгеймера и Паркинсона). Для низших эукариот важна катаболическая функция DAAO. С помощью DAAO клетки грибов и дрожжей могут использовать D-AA как источник углерода и азота.

У ферментов из разных источников в широких пределах варьируют значения рН стабильности, температурной стабильности, Km, специфической активности по отношению к разным субстратам. Варибельность свойств DAAO обуславливает разнообразие их практических применений [4].

На основе DAAO созданы биосенсоры для определения очень низких концентраций D-AA в медицине и для контроля бактериального заражения в продуктах питания. Биокатализаторы на основе DAAO используются в промышленности для конверсии модифицированных D-аминокислот при синтезе цефалоспориновых антибиотиков. Высокая стереоспецифичность DAAO используется для получения альфа-кетокислот, природных и неприродных L-аминокислот, что важно при получении некоторых лекарств [5,6].

В связи с высоким биотехнологическим и медицинским значением DAAO разработка эффективных и экономичных систем продукции этих ферментов представляет несомненный интерес.

Перспективным организмом-хозяином для продукции рекомбинантных DAAO являются клетки метилотрофных дрожжей. С помощью эффективных регулируемых промоторов генов утилизации метанола можно легко проводить оптимизацию процессов ферментации рекомбинантных штаммов-продуцентов DAAO. Проблему токсичности гетерологичных DAAO для клеток *E. coli* можно устранить за счет адресации синтезируемых ферментов в пероксисомы, содержащие большое количество каталазы.

Эффективные системы продукции в клетках *P. pastoris* DAAO из дрожжей *Trigonopsis variabilis* и *Rodotorula gracilis* уже описаны [7,8]. Однако эти работы не учитывают продукцию собственных эндогенных оксидаз хозяйских штаммов.

Известны гены и ферменты DAAO из дрожжей *Candida boidinii* (1 ген) и *Pichia pastoris* (2 гена) [9, 10] Гены и ферменты DAAO другого важного для биотехнологии штамма метилотрофных дрожжей

Hansenula polymorpha DL-1 ранее не были охарактеризованы.

Цель работы состояла в выяснении физиологической роли, биохимической характеристике продуктов отдельных генов DAAO штамма DL1, а также в определении характера экспрессии этих генов и регуляции активности DAAO в зависимости от источников азота и углерода.

Результаты и обсуждение

Геном штамма DL1 содержит 6 генов — HPDL899, HPDL2082, HPDL2165, HPDL2194, HPDL2400, HPDL5094, которые кодируют белки размером от 332 до 359 а.к.о, относящиеся согласно аннотации NCBI к суперсемейству FAD-зависимых оксидоредуктаз. Степень сходства аминокислотных последовательностей этих белков при попарном выравнивании составляет от 44 до 50%. Множественное выравнивание этих 6-ти последовательностей и последовательностей других охарактеризованных DAAO метилотрофных дрожжей *S. boidinii* и *P. pastoris* позволяет выделить несколько консервативных мотивов — характерный для всех нуклеотид связывающих ферментов N-концевой мотив GXGXXG, указывающий на наличие укладки по Россману, несколько консервативных кластеров в центральных и C-концевых участках. Ряд последовательностей, но не все, содержат C-концевые сигнальные пептидов для транспорта белков в пероксисомы.

Для биохимической характеристики изучаемых оксидаз были созданы конструкции для экспрессии генов DAAO/DASPO в клетках *E. coli*, получены штаммы *E. coli*-продуценты оксидаз, отработаны условия культивирования с получением функционально-активных ферментов, разработаны выделения растворимых функционально-активных форм ферментов, кодируемых генами HPDL2914, HPDL2165, HPDL2400.

Показано, что HPDL2914, HPDL2165 кодируют ферменты с активностью DAAO, а ген HPDL2400 — с активностью DASPO, определены физико-химические и каталитические характеристики рекомбинантных ферментов.

Для изучения физиологической роли отдельных генов DAAO были созданы конструкции для их генетической инактивации, получена коллекция нокаутов по генам DAAO и осуществлена ее генетическая и физиологическая характеристика.

При получении коллекции «нокаутных» штаммов использовали метод «одностадийной замены генов» а также разработанную в ФИЦ Биотехнологии РАН оригинальную систему для последовательной множественной инсерционной инактивации генов в клетках *H. polymorpha*, основанную на cre-lox сайт-специфической рекомбинации [11].

Созданную коллекцию одиночных, двойных, тройных нокаутов использовали для изучения био-

химических и физиологических характеристик полученных штаммов.

Прежде всего, были определены параметры роста полученных штаммов в стандартных условиях. Было показано, что внесенные генетические модификации не приводят к ослаблению пролиферации штаммов по сравнению с исходными — реципиентом DL1 и ранее полученными одиночными нокаутами. Эти данные получили при анализе характера роста культур на полных и синтетических плотных и жидких средах с использованием глюкозы либо метанола в качестве источника углерода.

В чашечном тесте с помощью серийных разведений не было выявлено заметных различий в характере роста штаммов на минимальной среде с сульфатом аммония и глюкозой и метанолом. Также не были обнаружены отличия в степени чувствительности штаммов к осмотическому стрессу (рост на чашках с 0,8 М NaCl), окислительному стрессу (рост на чашках с 2,5 мМ перекисью водорода). В то же время были выявлены отличия в характере роста штаммов на плотных средах с D,L-аланином — нокауты с сохраненным геном HP2914 росли несколько лучше других штаммов, что косвенно свидетельствует о важности этого штамма для окисления D-аланина.

Различия в параметрах роста штаммов оказались более резкими при продолжительном культивировании на жидких средах. Реципиентный штамм DL1, нокауты по генам HP2165, HP2400, тройной нокаут росли гораздо лучше на среде с DAla-глицерин метанол, штамм-нокаут по гену HP2914 наоборот, рос лучше на среде с сульфатом аммония и глюкозой. Эти результаты позволили предположить, что ген HP2914 кодирует оксидазу, важную для роста на этом субстрате.

Активность DAAO в штамме DL1 совместно индуцируется D-Ala и смесью 1% глицерина и 1% метанола

(1% GM). Сульфат аммония (AS), 2% глюкоза (2% Glu) подавляют индукцию активности DAAO/

При исследовании характера экспрессии генов DAAO у *H. polymorpha* и регуляции активности DAAO в зависимости от источников азота и углерода было показано, что в штамме DL1 выращенном на среде с D-Ala и 1% глицерином и метанолом в 10–25 раз повышена активность по отношению к трем различным субстратам — D-Ala, D-Asp, D-Phe.

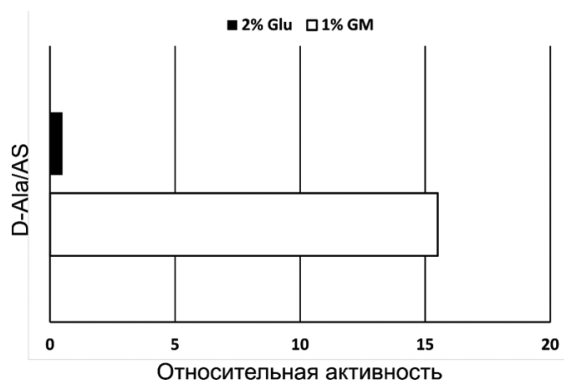
Мы показали, что D-Ala является эффективным индуктором активности DAAO при росте на среде с глицерином и метанолом. Глюкоза и сульфат аммония подавляли оксидазную активность. На среде с глюкозой DL-Ala является слабым индуктором DAAO (Рис 1). Таким образом, характер индукции активностей DAAO у *H. polymorpha* оказался сходным с таковым у дрожжей *R. gracilis*[12].

Исследование характера транскрипционной регуляции генов DAAO проводили путем RT-PCR анализа их экспрессии при росте штамма DL1 на средах с разными источниками азота и углерода. Было показано, что рост на среде с D-Ala и смеси глицерина и метанола индуцирует экспрессию генов HP2914, HP2165. Эти данные говорят о наличии общего механизма регуляции экспрессии генов DAAO у дрожжей *H. polymorpha* и *R. gracilis*, и, возможно, других видов.

Список литературы

1. Тишков В, Хороненкова С. (2005) Биохимия., 70, 51–67.
2. Pollegioni L, Piubelli L, Sacchi S, Pilone MS, Molla G. (2007) Cell Mol Life Sci., 64, 1373–
3. Pollegioni L, Molla G, Sacchi S, Rosini E, Verga R, Pilone MS. (2008) Appl Microbiol Biotechnol., 78, 1–16.
4. Pollegioni L, Molla G. (2011) Trends Biotechnol., 29, 276–83.
5. Pilone MS, Pollegioni L. (2002) Biocatal Biotransformation., 20, 145–159.
6. Asano Y, Yasukawa K. (2019) Curr Opin Chem Biol., 49, 76–83.
7. Abad S, Nahalka J, Winkler M, et al. (2011) Biotechnol Lett., 33, 557–63.
8. Abad S, Nahalka J, Bergler G, et al. (2010) Microb Cell Fact., 9, 24.
9. Yurimoto H, Hasegawa T, Sakai Y, Kato N. (2000) Yeast., 16, 1217–27.
10. Klomp maker SH, Kilic A, Baerends RJ, Veenhuis M, van der Klei IJ. (2010) FEMS Yeast Res., 10, 708–16.
11. Agaphonov MO. (2017) FEMS Microbiol Lett., 364., DOI:10.1093/femsle/fnx222.
12. Molla G, Motteran L, Piubelli L, Pilone MS, Pollegioni L. (2003) Yeast., 20, 1061–1069.

Рисунок — Роль источников азота и углерода в индукции оксидазной активности



ОСОБЕННОСТИ РОСТА И РАЗВИТИЯ КУЛЬТИВИРУЕМОГО ШАМПИНЬОНА (*AGARICUS BISPORUS* (J.E. LANGE) *IMBACH*) ПРИ ИЗМЕНЕНИИ БАЛАНСА ИСТОЧНИКОВ ПИТАНИЯ

Комиссаров Н.С., Дьяков М.Ю., Гарибова Л.В.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, кафедра микологии и альгологии

Культивирование съедобных макромицетов (грибоводство) — это стремительно развивающаяся экономически целесообразная отрасль биоиндустрии по промышленному производству грибов в пищевых и медицинских целях. В основе ее лежит процесс формирования плодовых тел высшими базидиомицетами. В свете роста потребности в продуктах этой индустрии и расширении списков культивируемых видов актуальным является в первую очередь изучение особенностей питания культивируемых грибов и процессов, связанных с инициацией и развитием плодовых тел. Здесь особое значение приобретают влияние дополнительных источников азотно-углеродного питания на скорость мицелиального роста, процесс заложения примордиев, их развитие и объем получаемой биомассы гриба (урожайность).

В качестве изучаемого объекта был выбран шампиньон двуспоровый (*Agaricus bisporus* (J.E. Lange) *Imbach*), гумусный сапротроф, выращиваемый более, чем в 100 странах мира (Barmon *et al.*, 2012, Suman, Sharma, 2007).

Цель работы — исследование влияния дополнительных источников питания на основе отходов сельского хозяйства на вегетативную фазу роста (мицелий) и генеративную фазу (плодообразование) на компосте фазы III.

Задачи:

- определение скорости и характера роста мицелия шампиньона на компосте фазы II и фазы III с дополнительными источниками питания. Изучение скорости закладки мицелиальных узелков и процесс формирования примордиев на покровной почве на компосте фазы III;
- Учет количества примордиев и плодовых тел. Учет общей биомассы плодовых тел.

В работе использовались:

- Коммерческий мицелий шампиньона двуспорового (*Agaricus bisporus*) фирмы *Sylvan* сорта A15;
- Дополнительные источники питания на основе отходов сельского хозяйства;
- Компосты фазы II и III;
- Стандартная покровная почва.

1. Влияние дополнительных источников питания на скорость роста мицелия шампиньона двуспорового на компосте фазы II.

Эксперимент с компостом фазы II использовали для первичного отбора дополнительных источников питания и выбора технологической фазы для их внесения. Компост фазы II помещали в полипропиленовые пакеты и автоклавировали при температуре +120 °С. Затем, в стерильных условиях проводилось измельчение и внесение питательных добавок в стерильный компост из расчета 1% по массе. Затем компост, заинокулированный мицелием, помещали в стерильные чашки Петри.

Инкубация проводилась при +25 °С до конца эксперимента. Ежедневно проводились замеры радиусов колоний, оценка морфологии мицелия и фотодокументирование.

В ходе этого эксперимента из общего количества дополнительных источников питания были выделены 4, которые продемонстрировали наиболее значительный положительный эффект и участвовали в дальнейших опытах (табл. 1).

2. Изучение влияния дополнительных источников питания на компосте фазы III методами «чашечных половинок» и в колбах Эрленмейера (по скорости вегетативного роста и формирования мицелиальных узелков и примордиев).

В условиях стерильного лабораторного бокса производилось внесение измельченных дополнительных питательных компонентов в компост фазы III (2% массы). Затем, чашки Петри заполнялись по методу «чашечных половинок» (Eger, 1962) в пяти повторностях. Для этого вносили компост фазы III и покровную почву в стерильные стеклянные чашки Петри толщиной около 1 см, при этом одна половина чашки была заполнена компостом с питательной добавкой, вторая — покровной почвой. В опыте с колбами в них вносили слой компоста, сверху наносили слой покровной почвы. Опыт проведен в трех повторностях.

Варианты опыта: контроль I (без добавок), контроль II (1% импортного питательного субстрата), два варианта кукурузных отходов, отходы обработки сои и люпина.

Инкубация проводилась при температуре +25 °С в течение 7 суток. Затем чашки с субстратом и колбы открывали для вентиляции и инкубировали при температуре +17 °С, накрыв регулярно смачиваемой стерильной марлей для создания условий инициации и формирования плодовых тел.

Ежедневно учитывались рост и особенности морфологии мицелия (паутинистый мицелий, тяжи, мицелиальные узелки, примордии) и фотодокументирование. В опыте с колбами проводился учет количества и общей массы плодовых тел (табл. 2, 3).

3. Скорость формирования структур морфогенеза при изменении баланса источников питания на компосте фазы III в модельных опытах.

Эксперименты показали, что внесение дополнительных источников питания в колбы оказывает влияние на процесс развития шампиньона двуспорового. Внесение в компост дополнительных питательных субстратов ускоряет процесс морфогенеза: формирование тяжелой, мицелиальных узелков, примордиев и последующее развитие плодовых тел. В вариантах опытов с внесенными дополнительными источниками питания наблюдается раннее начало формирования мицелиальных узелков и примордиев, увеличение их числа, размеров и биомассы плодовых тел (табл. 2, 3, 4).

Обсуждение результатов. В ходе первого опыта были выявлены наиболее эффективные дополнительные источники азотно-углеродного питания. Использование отходов обработки кукурузы оказывало наиболее сильный эффект на скорость зарастания мицелием компоста фазы II. По своему действию на скорость роста мицелия отходы сои находились на уровне импорт-

ной добавки (табл. 1). Внесение в компост фазы III отходов обработки кукурузы и сои увеличивало скорость роста мицелия и количество плодовых тел. В среднем, общее число плодовых тел на компосте с изученными сельскохозяйственными отходами было больше, чем на компосте с импортной добавкой, особенно во время второй и третьей волны плодоношения. При этом наилучшие результаты были показаны для соевых отходов. Эффект импортной добавки на второй и третьей волне был незначительным. Отобранные отходы обработки растительных субстратов оказывали более пролонгированный положительный эффект, механизм действия этого еще предстоит изучить (табл. 2, 3).

Таблица 1 — Влияние внесения дополнительных источников углеродно-азотного питания в компост фазы II на рост мицелия шампиньона двуспорового

Добавка	Средняя скорость роста мицелия, мм/сут.
Импортная добавка	1,224±0,061
Кукурузные отходы 1	1,248±0,062
Кукурузные отходы 2	1,152±0,056
Отходы обработки сои 1	1,224±0,061
Отходы обработки люпина 1	0,768±0,038
Отходы обработки люпина 2	0,48±0,024

Таблица 3 — Результаты трех волн плодоношения по количеству плодовых тел и общей биомассе грибов

Вариант	Сумм. число плодовых тел* по волнам			Сумм. масса плодовых тел, г** по волнам			Общее число плодовых тел	Общая биомасса за три волны, г
	1	2	3	1	2	3		
Контроль I (без добавок)	9	4	3	88,23±4,41	30,57±1,52	13,9±0,7	16	132,7±6,6
Контроль II (импортная добавка)	7	2	3	115,7±5,8	14,62±0,7	19,1±1,3	12	149,45±7,47
Кукурузные отходы 1	11	5	2	72,95±3,6	53,48±2,7	12,82±0,64	18	139,25±6,9
Отходы обработки сои 1	12	8	2	102,34±5,1	36,82±1,8	13,19±0,65	22	152,35±7,6

Примечания: * — суммарное по трем повторностям; ** — суммарная масса плодовых тел по трем повторностям.

Таблица 4 — Влияние внесения дополнительных питательных субстратов на скорость формирования вегетативных и генеративных мицелиальных структур шампиньона двуспорового

Вариант опыта	Время формирования в ходе эксперимента, сут.				
	Мицелиальные узелки	Примордии	Плодовые тела		
			первой волны	второй волны	третьей волны
Контроль (без добавки)	3	5	8	15	23
Отходы обработки сои 1	2	4	7	15	22

Добавка	Средняя скорость роста мицелия, мм/сут.
Отходы обработки сои 2	0,744±0,037

Таблица 2 — Влияние внесения в компост фазы III питательных субстратов на характер роста мицелия

Добавка	Скорость роста мицелия, мм/сут.*	Число узелков*
Контроль I (без добавок)	1,4±0,07	24
Контроль II (импортная добавка)	1,73±0,087	31
Кукурузные отходы 1	2,1±0,1	18
Отходы обработки сои 1	1,5±0,076	64

* — среднее из трех повторностей.

Список литературы

1. Barmon B. K., Sharmin I., Abbasi P. K., Mamun A. Economics of mushroom (*Agaricus bisporus*) production in a selected Upazila of Bangladesh // The Agriculturists. 2012. Vol. 10. №. 2. P. 77–89.
2. Suman, B.C., Sharma, V.P. Mushrooms cultivation in India. Delhi: Daya Publishing House, 2007. 179 pp.
3. Eger G. Untersuchungen zur fruchtkörperbildung des kulturchampignons // Mushroom Science. 1962. №. 5. P. 314–320.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ТВЕРДЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА РОСТ МИЦЕЛИЯ ДОЖДЕВИКА ГИГАНТСКОГО

*Лавлинский А.В., Гамаюнова М.А.
Воронежский государственный университет*

Дождевик гигантский (синонимы — Лангермания гигантская, Кальвазия) кроме пищевого применения используется в медицине для лечения различных заболеваний, в том числе и тяжелых. Плодовые тела этого вида грибов используется в народной медицине для остановки кровотечения при ранениях, некоторых заболеваниях почек. На их основе уже получены противоопухолевые антибиотики, например, кальвацин. Для успешного выращивания данных ценных грибов необходимо получение их мицелия из плодовых тел или музейных культур, с последующим его размножением. Размножение мицелия, как правило, начинается с маточных культур на твердой питательной среде. Состав используемых при культивации питательных сред может нужным образом ускорять или, наоборот замедлять рост и развитие на них мицелия. Для введения в культуру дождевика гигантского были использованы его споры из зрелого плодового тела, помещенные на твердую питательную среду с добавлением отвара картофеля, риса, овса и кукурузы. Нами была частично изменена стандартная методика выращивания мицелия грибов из спор, из которой был исключен этап обработки спорового порошка перекисью водорода. Данная модификация была связана с возможностью ингибирующего влияния H_2O_2 на последующий рост колоний мицелия. Результаты предварительного опыта по прорастанию мицелия дождевика гигантского из спор на различных питательных средах показали, что наибольшее количество развившихся колоний в чашках Петри было при использовании питательной среды с добавлением отвара картофеля. С использованием данных сред нами был успешно получен дикариотический мицелий дождевика гигантского для дальнейшей работы с ним. Проводилось измерение площади колоний мицелия (S), периметра (P) и расчет их коэффициента сферичности (F) по формуле: $F=4\pi S/P^2$. Результаты измерений обрабатывались статистически по

стандартной методике. Значения признаков площади и коэффициента формы колоний мицелия дождевика гигантского на твердой питательной среде с добавлением отвара кукурузы представлены в таблице.

В процессе исследований нами были изучены особенности морфологического строения колоний мицелия изучаемого объекта на поверхности твердой питательной среды со всеми типами органических добавок. Колонии мицелия Дождевика гигантского характерный внешний вид, свойственный для высших базидиальных грибов. В начальной точке роста (1 день) колонии мицелия приобретали форму носителя (зернового инокулюма), с которого начинался их рост. В ходе дальнейшего роста колонии мицелия на данных питательных средах приобрели свои морфофизиологические особенности: скорость роста, плотного расположения гифов в колонии, размеры к концу сроков наблюдения, степень сферичности. Полученные нами данные показали, что наилучший рост колоний мицелия Дождевика гигантского проходил на среде с добавлением отвара картофеля. Существенно медленнее рост колоний мицелия проходил на средах с добавлением отвара овса и кукурузы. Измерения коэффициента сферичности колоний показало, что наиболее близкой к сферичной были колонии мицелия на среде с добавлением отвара картофеля и кукурузы, наименее сферичной — на среде с добавлением овса. Полученные нами результаты наблюдений свидетельствуют о неодинаковой реакции Дождевика гигантского на использованные нами составы питательных сред. Вероятно, это связано с его генотипическими особенностями по выработке необходимых ферментов для усвоения питательных компонентов взятых нами в опыте твердых сред. Таким образом, нами показана перспективность использования твердых питательных сред с добавлением отвара картофеля как питательного ингредиента при введении в культуру Дождевика гигантского.

Таблица — Площадь и коэффициент формы колоний мицелия у Дождевика гигантского в дни наблюдений на средах с добавлением различных ингредиентов

День наблюдений	Площадь колонии, см ²		
	Коэффициент формы колонии, F, $\bar{X} \pm S\bar{x}$		
	Отвар кукурузы	Отвар картофеля	Отвар овса
1	0,83±0,12; 0,62±0,08	1,19±0,18; 0,57±0,05	1,18±0,08; 0,52±0,05
3	0,86 ±0,13; 0,62±0,07	1,44±0,36; 0,56±0,08	1,20±0,07; 0,54±0,06
7	1,16±0,14; 0,62±0,07	1,88±0,50; 0,57±0,07	1,30±0,70; 0,55±0,05
10	2,50±0,61; 0,66±0,10	3,80±0,44; 0,87±0,21	1,76±0,08; 0,56±0,08
13	2,80±0,71; 0,67±0,11	6,03±0,27; 0,66±0,11	2,01±0,20; 0,56±0,06

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ НОВОУСМАНСКОГО РАЙОНА ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Мелькумов Г.М., Колесникова Т.Е.
Воронежский государственный университет

Большинство видов грибов обладают фармакологическими свойствами. В ряде зарубежных стран разрабатывают препараты на основе веществ, синтезируемые из плодовых тел макромицетов. За последние десятилетия был обнаружен и идентифицирован еще целый ряд новых антибиотических веществ, выделены в промышленных масштабах витамины, полисахариды, экстракты, антиоксидантные и биологически активные вещества.

На сегодняшний день данная проблема является актуальной, так как большинство современных препаратов являются искусственно синтезированными и накапливаемыми в печени, почках и ряде других органах, нанося существенный вред здоровью. Органическая составляющая грибов обладает большой степенью усвояемости организмом человека, что свидетельствует о наименьшем отрицательном влиянии на организм.

Сбор материала осуществлялся в мае-октябре 2018–2019 гг. на территории лесных ценозов Новоусманского района Воронежской области. Идентификация видов осуществлялась с помощью определителей (Лебедева, 1949; Бондарцев, 1953; Лессо, 2003; Янсен, 2005; Кибби, 2009; Стороженко и др., 2014 и др.). Установление фармакологических свойств обнаруженных видов грибов проводилось по современным литературным источникам (Лессо (2007); Эванс, Кибби (2008); Кибби (2009); Янсен (2013); Филиппова (2013); Матанцев, Матанцева (2014) и др.).

Названия таксонов грибов приводятся в соответствии с данными Интернет-ресурса <http://www.mycobank.org> (по состоянию на 25.02.2020) и расположены согласно системе, представленной в 10-м издании Словаря грибов Айнсфорта и Бисби (Kirk et al., 2008).

В результате проведенного микологического исследования было обнаружено 96 видов лекарственных грибов Новоусманского района Воронежской области, относящихся к отделам *Ascomycota* и *Basidiomycota*, 4 классам, 11 порядкам, 37 семействам и 70 родам (табл. 1).

Большинство выявленных видов относится к порядку *Agaricales* (44 вида; 45,8 % от общего числа видов). Меньшим числом видов характеризуются порядки *Polyporales* (18; 18,8 %), *Russulales* (12; 12,5 %), *Boletales* (10; 10,4 %), *Hymenochaetales*, *Pezizales* (3; 3,1

%), *Xylariales* (2; 2,1 %). Порядки *Auriculariales*, *Helotiales*, *Cantharellales*, *Phallales* представлены 1 видом (1,0 %).

Наибольшее число видов грибов относится к семействам *Polyporaceae* (11; 11,5 %), *Agaricaceae*, *Russulaceae*, *Tricholomataceae* (7; 9,4 %), *Boletaceae*, *Strophariaceae* (6; 6,3 %), *Amanitaceae*, *Fomitopsidaceae* (4; 4,2 %), *Hymenochaetaceae*, *Physalacriaceae* (3; 3,1 %), *Ganodermataceae*, *Lyophyllaceae*, *Marasmiaceae*, *Omphalotaceae*, *Pleurotaceae*, *Psathyrellaceae* (2; 2,1 %), *Bondarzewiaceae*, *Coprinaceae*, *Discinaceae*, *Exidaceae*, *Fistulinaceae*, *Gomphidiaceae*, *Helotiaceae*, *Heriaceae*, *Hydnaceae*, *Hypoxylaceae*, *Morchellaceae*, *Phallaceae*, *Pezizaceae*, *Phanerochaetaceae*, *Schizophyllaceae*, *Sclerodermataceae*, *Stereaceae*, *Suillaceae*, *Tapinellaceae*, *Xylariaceae* (1; 1,0 %).

Плодовые тела грибов могут содержать различные биологически активные вещества, нашедшие применение в фармацевтической промышленности для производства лекарственных препаратов (табл. 2.).

Большинство обнаруженных видов грибов могут применяться для лечения онкологических заболеваний (57 видов; 59,4 % от числа фармацевтически важных видов), 48 видов (50,0 %) для получения веществ обладающих антибактериальной активностью, 28 видов (29,2 %) — обладают противовирусной активностью, 21 (21,9 %) — иммуностимулирующими свойствами, 15 (15,6 %) — противовоспалительным действием, 14 (14,9 %) могут использоваться для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, 13 (13,5 %) — обладают антиоксидантной активностью, 12 (12,5 %) — при лечении болезней нервной системы, 11 (11,5 %) — почек, 10 (10,4 %) — печени, 7 (7,3 %) — при заболеваниях глаз и нарушениях уровня холестерина в крови, 6 (6,3 %) — при проблемах с органами дыхания, диабете и гипертонии, 5 (5,2 %) — обладают противогрибковой активностью, используются при социальных заболеваниях, таких как стресс, депрессия, алкоголизм, проблемах с половой системой, при химиотерапии и выводе радионуклеидов. Антипаразитарной активностью и при лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы используются всего 3 вида (3,1 %) обнаруженных макромицетов.

Исследования видового состава лекарственных грибов лесных сообществ Новоусманского района Воронежской области будут продолжены.

Таблица 1 — Таксономический состав выявленных видов лекарственных грибов Новоусманского района Воронежской области

Отдел	Класс	Порядок	Семейство	Число родов	Число видов
<i>Ascomycota</i>	<i>Leotio-mycetes</i>	<i>Helotiales</i>	<i>Helotiaceae</i>	1	1
	<i>Pezizo-mycetes</i>	<i>Pezizales</i>	<i>Discinaceae</i>	1	1
			<i>Morchellaceae</i>	1	1
			<i>Pezizaceae</i>	1	1
	<i>Sordario-mycetes</i>	<i>Xylariales</i>	<i>Hypoxylaceae</i>	1	1
			<i>Xylariaceae</i>	1	1

Окончание табл. 1

Отдел	Класс	Порядок	Семейство	Число родов	Число видов
Basi-dio-mycota	Agarico-mycetes	Agaricales	<i>Agaricaceae</i>	6	9
			<i>Amanitaceae</i>	1	4
			<i>Coprinaceae</i>	1	1
			<i>Fistulinaceae</i>	1	1
			<i>Lyophyllaceae</i>	2	2
			<i>Marasmiaceae</i>	2	2
			<i>Omphalotaceae</i>	1	2
			<i>Physalacriaceae</i>	3	3
			Pleurotaceae	1	2
			<i>Pluteaceae</i>	2	2
			<i>Psathyrellaceae</i>	1	2
			<i>Schizophyllaceae</i>	1	1
			<i>Strophariaceae</i>	4	6
			<i>Tricholomataceae</i>	3	7
		Auriculariales	<i>Exidaceae</i>	1	1
		Boletales	<i>Boletaceae</i>	5	6
			<i>Gomphidiaceae</i>	1	1
			<i>Sclerodermataceae</i>	1	1
			<i>Suillaceae</i>	1	1
			<i>Tapinellaceae</i>	1	1
		Cantharellales	<i>Hydnaceae</i>	1	1
		Hymenochaetales	<i>Hymenochaetaceae</i>	3	3
		Polyporales	<i>Fomitopsidaceae</i>	3	4
			<i>Ganodermataceae</i>	1	2
			<i>Phanerochaetaceae</i>	1	1
			<i>Polyporaceae</i>	9	11
		Phallales	<i>Phallaceae</i>	1	1
		Russulales	<i>Bondarzewiaceae</i>	1	1
			<i>Hericiaceae</i>	1	1
			<i>Russulaceae</i>	2	9
<i>Stereaceae</i>	1		1		
2	4	11	37	70	96

Таблица 2 — Фармакологическое действие выявленных видов лекарственных грибов

Основные фармакологические свойства, активность	Число используемых видов грибов
Антибактериальная активность	48
Антивирусная активность	28
Антиоксиданты	13
Антипаразитарная активность	3
Антираковая активность	57
Гипертония	6
Диабет	5
Лечение заболеваний ЖКТ	14
Лечение заболеваний глаз	7
Иммуностимуляция	21
Лечение заболеваний легких	6
Лечение заболеваний нервной системы	12
Лечение заболеваний печени	10

Окончание табл. 2

Основные фармакологические свойства, активность	Число используемых видов грибов
Лечение заболеваний половой системы	5
Лечение заболеваний почек	11
Противовоспалительное действие	15
Противогрибковая активность	5
Лечение заболеваний сердечно-сосудистой системы	3
Стресс, депрессия, алкоголизм	5
Химиотерапия, вывод радионуклидов	5
Холестерин	7

Список литературы

1. Лебедева Л.А. Определитель шляпочных грибов. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1949. — 547 с.

2. Бондарцев А.С. Трутовые грибы Европейской части СССР и Кавказа. — М.; Л.: АН ССР, 1953. — 1106 с.
3. Лессо Т. Определитель. Грибы. — М.: АСТ-Астрель, 2003. — 303 с.
4. Янсен П. Все о грибах. — М., 2005. — 160 с.
5. Кибби Дж. Атлас грибов: Определитель видов. — СПб: Амфора. ТИД Амфора, 2009. — 269 с.
6. Стороженко В.Г., Крутов В.И., Руоколайнен А.В. и др. Атлас определитель дереворазрушающих грибов лесов Русской равнины. — М.: Товарищество научн. изданий КМК, 2014. — 195 с.
7. Эванс Ш., Кибби Дж. Энциклопедия. Грибы. — М.: АСТ-Астрель, 2008. — 26 с.
8. Филиппова И. Большая иллюстрированная энциклопедия. Лечебные грибы. Фунготерапия. — Вильнюс: UAB «Bestiry», 2013. — 120 с.
9. Матанцев А.Н., Матанцева С.Г. Все о лечебных свойствах грибов. — Вильнюс: UAB «Bestiary», 2014. — 120 с.
10. Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. Dictionary of the Fungi. — Wallugford: CABT Europe-UK, 2008. — 771 p.

СОХРАНЕНИЕ РЕДКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО МАКРОМИЦЕТА *SPARASSIS CRISPA* В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР ШЛЯПОЧНЫХ ГРИБОВ *IBK*

Михайлова О.Б.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

В последние годы внимание исследователей сфокусировано на проблеме сохранения биоразнообразия живых организмов. Сохранение редких и исчезающих видов макромицетов в культуре в специализированных коллекциях (*ex situ*) является составной частью общей проблемы сохранения биологического разнообразия грибов в дополнение к традиционному подходу — сохранению *in situ*. Благодаря разработанным методам работы с чистыми культурами грибов появились реальные возможности использования и приумножения генетических ресурсов макромицетов не только для практических целей (в биотехнологии, фармакологии, медицине, косметологии и т. п.), но и для проведения фундаментальных микологических исследований [1]. Ключевую роль в этом играют специализированные коллекции культур. В Институте ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины более 50 лет назад была создана Коллекция культур шляпочных грибов (*IBK*) [2]. На данный момент в ней поддерживается более 1300 штаммов, относящихся к 250 видам из 110 родов отделов *Basidiomycota* и *Ascomycota* [3]. Выделение в чистую культуру и поддержание в коллекции *IBK* редких и исчезающих видов макромицетов является одним из ключевых этапов при сохранении биоразнообразия этих организмов *ex situ* [4].

Среди макромицетов, находящихся под угрозой исчезновения, есть виды, представляющие значительный интерес для биотехнологии в качестве продуцентов ценных биологических активных веществ (БАВ) [5]. К таким видам относится и съедобный лекарственный вид *Sparassis crispa* (Wulfen) Fr. (спарассис кучерявый). Современными исследованиями доказано, что *S. crispa* можно считать не только деликатесным пищевым продуктом, но и перспективным продуцентом для получения фармакологических веществ широкого спектра действия [6]. Установлено, что экстракты *S. crispa*, полученные как из плодовых тел, так и мицелиальной массы, имеют иммуномодулирующую, онкостатическую, антиметастатическую, антибиотическую, антифунгальную активности [7–9]. Сегодня этот вид рассматривают как перспективный объект биотехнологии

для получения β-глюкоканов в промышленных масштабах [10].

Сбор плодовых тел спарассиса кучерявого вместе с неконтролируемой вырубкой лесов привели к резкому сокращению численности локалитетов данного вида. *S. crispa* занесен в Красную книгу РФ со статусом III (R) редкий вид и в Красную книгу Республики Беларусь, Красную книгу Украины со статусом исчезающий, находится в списках исчезающих видов некоторых европейских стран: Польши, Бельгии, Эстонии, Литве, Норвегии и Латвии. Практическая сторона охраны *S. crispa* в Украине реализуется путем поддержки штаммов этого вида в Коллекции (*IBK*). На данный момент в коллекции *IBK* сохраняются 10 штаммов *S. crispa* разного географического происхождения. Верификация сохраняемого в коллекции микологического материала имеет ключевое значение при использовании культур в научных и, особенно, в практических целях. Поэтому особое внимание необходимо обращать на комплекс культурально-морфологических признаков на основе которых можно подтвердить таксономический статус того или иного штамма.

Проведена верификация культур *S. crispa* с использованием молекулярно-генетических методов. Проведено полное определение нуклеотидных последовательностей внутреннего транскрипционного спейсера: ITS1, 5.8S и ITS2 регионов рРНК, а также частичное определение 18S и 28S последовательностей, окружающих ITS. На основе полученных нуклеотидных последовательностей штаммы *S. crispa* зарегистрированы в Генбанке.

В ходе исследования установлены культурально-морфологические характеристики, которые необходимо учитывать при идентификации вида *S. crispa* в вегетативной стадии развития (микро- и макроморфология вегетативного мицелия на стандартной питательной среде, ростовые показатели (радиальная скорость роста), критическая температура, оптимальные для роста значения pH, источники углеродного и азотного питания, условия для получения генеративной стадии *in vitro*.

Одним из важнейших таксономических признаков при идентификации базидиальных макромицетов в культуре является наличие пряжек на мицелии. Для всех исследованных штаммов *S. crispa*, характерны гифы с регулярными односторонними пряжками без зазора. Вегетативный мицелий состоит преимущественно из умеренно разветвленных, регулярно септированных, неокрашенных генеративных гиф, диаметром 1,5–3 мкм. Гифы образуют многочисленные анастомозы, мицелиальные тяжи, сливаясь между собой и формируя мицелиальные пленки. После 18 суток культивирования наблюдались различные проявления секреторной деятельности — секреторные гифы, инкрустированные кристаллами разнообразной формы (игольчатые, собранные в пучки и тетраэдрические). Кроме того, на мицелии образовывались секреторные капли, покрывающие значительные участки гиф.

Установлено изменчивость морфологических признаков мицелиальных колоний в зависимости от состава агаризованной питательной среды. Для штаммов *S. crispa* высота и плотность колоний, способность образовывать генеративную стадию варьировали в зависимости от состава питательной среды. На агаризованном сусле (СА) с добавлением опилок сосны или вишни (1%) формировались плотные, непрозрачные, бархатные колонии, белого цвета, край колонии неровный, прижатый к субстрату. Наименее пригодными для культивирования оказались среды: мальц экстракт агар (МЕА), картофельно-декстрозный агар (КДА) и глюкозо-пептон-дрожжевой агар (ГПДА), на них штаммы формировали паутинистые или порошистые прозрачные колонии, белого цвета, край колонии неровный, прижатый к субстрату. Подобраны условия для получения генеративной стадии *in vitro* на средах с растительными добавками. Формированию плодовых тел способствовали среды с добавлением древесины сосны, вишни. Способность *S. crispa* образовывать генеративную стадию *in vitro* на питательных средах определенного состава можно использовать для верификации штаммов данного вида в коллекциях [11].

Определены скорость радиального роста на агаризованных средах различного состава. По показателю радиальной скорости роста исследованные штаммы *S. crispa* можно отнести к группе медленно растущих грибов, радиальная скорость роста была в пределах 0,5–2,8 мм/сутки. Максимальную скорость роста культурам *S. crispa* обеспечивали среды с растительными добавками. Изучен рост культур при разных температурах. Исследовано влияние критических температур на жизнеспособность вегетативного мицелия. Штаммы *S. crispa* при повышении температуры инкубации до 34 °C не росли, однако не теряли своей жизнеспособности. Температура 39 °C с экспозицией 3 суток для некоторых штаммов (312 и 314) оказалась критической. Остальные штаммы теряли жизнеспособность при температуре 40 °C. Таким образом, отношение к критическим температурам является определенным признаком отдельного штамма. Установлены основные параметры культивирования (температура инкубации, pH, источники углерода и азота). Оптимальным значением pH среды для роста штаммов *S. crispa*, был диапазон pH от 4,0 до 4,5, лучшим источником углерода — мальтоза и глюкоза, азота — пептон, аспарагин. Разработаны рекомендации по

составу питательных сред, условиям температуры и pH для сохранения штаммов *S. crispa* в физиологически активном состоянии в течение длительного срока.

Список литературы

1. Псурцева Н. В. Культуральная характеристика как основа верификации макромицетов при сохранении *ex situ*. Высшие базидиальные грибы: индивидуумы, популяции, сообщества: матер. юбилейной конфер., посвященной 100-летию со дня рождения М.В. Горленко. Москва. 2008. С. 174–181.
2. Ломберг М. Л., Михайлова О. Б., Бисько Н. А. Коллекция культур шапинковых грибов (*IBK*) як объект національного надбання. Укр. ботан. журн. 2015. 72 (1): 22–28.
3. Bisko N. A., Lomberg M. L., Mytropolska N. Yu., & Mykchaylova O. B. The *IBK* mushroom culture collection. Kyiv: M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of the Ukraine, Alterpres. 2016. 120 p.
4. Bisko N. A., Sukhomlyn M. M., Mykchaylova O. B., Lomberg M. L., Tsvyd N. V. et al. Ex situ conservation of rare and endangered species in mushroom culture collections of Ukraine. Ukr. Bot. J. 2018. 75 (4): 338–347.
5. Mykchaylova O. B., Lomberg M. L., Bisko N. A. Verification and screening of biotechnologically valuable macromycetes species *in vitro* // In: Development of Modern Science: the Experience of European Countries and Prospects for Ukraine: monograph. Riga, Latvia: "Baltija Publishing", 2019: 354–375.
6. Dalonso, N., Goldman, G. H., & Gern, R. M. M. (2015). β -(1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 6)-Glucans: medicinal activities, characterization, biosynthesis and new horizons. *Applied microbiology and biotechnology*, 99 (19): 7893–7906.
7. Yoshikawa, K., Kokudo, N., Hashimoto, T., Yamamoto, K., Inose, T., Kimura, T. (2010). Novel Phthalate Compounds from *Sparassis crispa* (Hanabiratake), Hanabiratakelide A-C, exhibiting anticancer related activity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 33(1), 1355–1359.
8. Yamamoto, K., Kimura, T., Sugitachi, A., & Matsuura, N. (2009). Anti-angiogenic and anti-metastatic effects of β -1,3-D-glucan purified from Hanabiratake, *Sparassis crispa*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32 (2): 259–263.
9. Дьяков М. Ю., Камзолкина О. В., Штаер О. В., Бисько Н. А., Поединок Н. Л., Михайлова О. Б., и др. Морфологические признаки природных штаммов некоторых видов базидиомицетов и биологический анализ антимикробной активности в условиях глубинного культивирования. *Микология и фитопатология*. 2010. 44 (3): 225–239.
10. Takashi, K. (2013). Natural Products and Biological Activity of the Pharmacologically Active Cauliflower Mushroom *Sparassis crispa*. *BioMed Research International*. 2013, 1–9.
11. Mykchaylova O. B., Gryganskyi A. P., Lomberg M. L., Bisko N. A. The study of morphological and cultural properties of *Sparassis crispa* (Sparassidaceae, Polyporales). *Ukrainian Journal of Ecology*. 2017. 7 (4): 550–558.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ *PHALLUS IMPUDICUS*Разин А.Н.¹, Филиппова И.А.², Волков М.Ю.³, Юшкевич Т.В.²¹НПО БИОЛЮКС, Санкт-Петербург²Центр Фунготерапии Ирины Филипповой, Санкт-Петербург³Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина

Биопрепараты *Phallus impudicus* природного происхождения в жидкой форме, обладает широким спектром действия. На уровне целостного организма было выявлено общеукрепляющее, антиоксидантное, вазоактивное, иммуностимулирующее и противовоспалительное действия.

В Центре фунготерапии Ирина Филипповой было продолжено изучение действия *Phallus impudicus* на организм животных, при применении его в различных лекарственных формах (водная суспензия, таблетки сублингвальные Веселка 0,1 г, суппозитории с *Phallus impudicus* 0,1 г).

Целью данных исследований являлось создание моделей, основанные на фармакопейных методах, которые в дальнейшем возможно использовать для посерийного контроля препарата в различных лекарственных формах по показателю «Биологическая активность»; в условиях лабораторий контрольных служб.

Изучение влияния *Phallus impudicus* на сердечно-сосудистую систему проводили на 10 кроликах в острых опытах. Животных наркотизировали уретаном, вводящего внутривенно в дозе от 1 до 1,5 г на кг массы животного. Кролика фиксировали на станке в положении на спине, обнажали правую сонную артерию и левую яремную вену. Отпрепарованную артерию соединяли с ртутным манометром с помощью системы трубок заполненных 8% раствором цитрата натрия трехзамещенного. Запись артериального давления проводили на ленте кимографа.

Оказалось, что препарат в разных разведениях при внутривенном введении вызывает дозозависимые гипотензивные реакции. Было выдвинуто предположение, что это связано с присутствием в нем ацетилхолиноподобных веществ. Для подтверждения гипотезы в кровь вводили атропин, который является холиноблокатором, способным устранять ацетилхолиновые гипотензивные эффекты. В качестве стандарта был выбран ацетилхолин хлорид (АЦХ), так как он обладает выраженным кратковременным холинэргическим действием и является относительно простым химическим соединением с установленной структурой и стабильными свойствами, что позволяет использовать его в качестве стандарта.

Раствор ацетилхолин хлорида вводили с интервалом 5 мин., в кровяное русло вводили образец *Phallus impudicus*. Вводимые в вену объемы АЦХ и *Phallus impudicus* должны, быть равны. Для получения близ-

кой по амплитуде гипотензивной реакции на стандарт и препарат, нативный раствор *Phallus impudicus* разводили в 2 раза. После получения устойчивых ответов на введения АЦХ и *Phallus impudicus*, в кровь вводили возрастающие дозы атропина, начиная с 10 мг атропина, в 0,1 мл воды для инъекций, увеличивая его концентрацию до полного устранения гипотензивных реакций. Доза атропина, которая снимала эффект от введения препаратов составила около 60 мг на кролика.

Снятие гипотензивных эффектов атропином при введении *Phallus impudicus* подтверждает нашу гипотезу о наличии в препарате ацетилхолиноподобных веществ. Это дает возможность использовать АЦХ в качестве стандарта.

Было показано, что *Phallus impudicus* в виде других лекарственных форм (сублингвальные таблетки, интравагинальные свечи) в острых опытах на кроликах также вызывал гипотензивные реакции. Был отмечен латентный период, что можно объяснить внесосудистым путем введения препарата.

Заключение

Проведенные исследования, показали, что метод, основанный на гипотензивном действии препарата, является перспективным. Его можно использовать как экспресс-метод для оценки биологической активности препарата. Аналогичный метод представлен в фармакопейных статьях для контроля биологически активных препаратов (Пантокрин, таблетки Ранторина, Велкорнин и др.). При доработке метода и экспериментальном исследовании промышленных образцов препарата *Phallus impudicus* данная методика может быть рекомендована в качестве фармакопейной. Описанный метод легко воспроизводим и точен. Его основным достоинством является возможность количественной оценки активного вещества.

Подводя итог выполненной работы по исследованию препарата *Phallus impudicus* и его лекарственных форм «Таблетки сублингвальные *Phallus impudicus* 0,1 г» и «Суппозитории с *Phallus impudicus* 0,1 г» было установлено, что все исследованные формы обладают вазодилаторными свойствами. Использование лекарственных форм *Phallus impudicus* не вызывало у животных никаких патологических реакций. Полученный фармакологический эффект были близки для всех исследованных форм препаратов.

ВЛИЯНИЕ ГИББЕРЕЛЛИНОВОЙ И ИНДОЛИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТ НА РОСТ *PLEUROTUS OSTREATUS* И *PLEUROTUS ERYNGII* В КУЛЬТУРЕ

Савенко А.В.¹, Ширишенко С.Ю.¹, Бойко О.А.¹, Круподерова Т.А.², Барштейн В.Ю.²

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

²ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины», Киев

Быстро растущее население нашей планеты значительно опережает рост производства продовольствия. Среди возможных источников белка и веществ, имеющих физиологическую активность, фигурируют, в том числе и в программах Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), грибы [1]. Речь идет о дикорастущих грибах, которые, очевидно, не смогут решить глобальную проблему голода. Что касается грибов, культивируемых в искусственных условиях, то, среди прочих, возникает проблема высокой себестоимости выращивания. Актуальной является разработка экономически эффективной и высокопроизводительной технологии производства, включающей и использование стимуляторов роста грибов — фитогормонов [2]. Исследования, связанные с гиббереллином продолжают уже более 100 лет [3], β-индолилуксусная кислота (гетероауксин) была впервые выделена в 1934 г. Исследование влияния этих фитогормонов на рост, в частности, грибов, продолжают до сих пор. Так, гиббереллин, гетероауксин, 6-бензиламинопурин и комплексные стимуляторы роста фумар и биогумат увеличивают скорость роста мицелия, сокращают срок появления примордиев и увеличивают урожайность плодовых тел *Pleurotus ostreatus* [4]. Исследовали влияние фумара, гиббереллина и гетероауксина на развитие и морфологическое состояние мицелия на разных этапах культивирования вешенки обыкновенной *P. ostreatus*. Фумар, гиббереллин и гетероауксин, в зависимости от концентрации, положительно влияют на процесс плодоношения, хотя неоднозначно действуют на рост мицелия *P. ostreatus* [5]. Исследование влияния гетероауксина, гиббереллина, фумара и биогумата на развитие вегетативного мицелия *P. ostreatus* при поверхностном культивировании на агаризованной питательной среде показало, что положительное воздействие на скорость радиального роста мицелия оказывают только фумар и биогумат, а гетероауксин тормозит развитие мицелия в фазе линейного роста [6]. Пять регуляторов роста, в том числе: 1-нафталинуксусная кислота, гетероауксин, гиббереллиновая кислота в шести концентрациях применялись для определения влияния на рост мицелия *Pleurotus eryngii* [1]. Таким образом, стойкий интерес

проявляется к проблеме влияния фитогормонов на рост грибов, в первую очередь — *P. ostreatus* и *P. eryngii*.

Целью нашей работы являлось изучение влияния гиббереллиновой и индолилуксусной кислот на рост *P. ostreatus* и *P. eryngii* в чистой культуре.

Объектом исследований были *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., штамм 551 и *Pleurotus eryngii* (DC.) Quel., штамм 2015 из Коллекции культур Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины (ИБК) [7].

Изучение влияния различных концентраций (0,001, 0,01, 0,5, 1,0, 15, 50, 100, 200 мг/л) гиббереллиновой и индолилуксусной кислот (3-ИОК) на рост гриба проводили на глюкозо-пептон-дрожжевой среде (г/л): 25,0 глюкозы, 3,0 дрожжевого экстракта, 2,0 пептона, 1,0 K_2HPO_4 , 1,0 KH_2PO_4 , 0,25 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Контролем была эта же среда, но без внесения фитогормонов. В качестве инокулюма использовали 3 мицелиальных диска диаметром 8 мм, вырезанные с помощью пробойника из зоны активного роста соответствующего вида гриба на агаризованной глюкозо-пептон-дрожжевой среде. Грибы выращивали путем стационарного жидкофазного культивирования при температуре культивирования +26 °С для *P. ostreatus* и +20 °С для *P. eryngii*. На 7 сутки роста в случае *P. ostreatus* и на 14 сутки в экспериментах с *P. eryngii* проводили учет накопления биомассы весовым методом, высушивая при 105 °С до постоянного веса. Все эксперименты проводили в трех повторностях.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о неоднозначном влиянии исследуемых концентраций фитогормонов на рост обоих видов грибов. Во всех использованных концентрациях установлено стимулирующее действие индолилуксусной кислоты и ингибирующий эффект гиббереллиновой кислоты на образование биомассы *P. ostreatus* (рис. 1). В целом, следует отметить постепенное положительное действие индолилуксусной кислоты в маленьких концентрациях от 0,001 и до 1 мг/л, с увеличением выхода биомассы почти в 2,67 раза при использовании 1 мг/л. В дальнейшем, с увеличением концентрации этого фитогормона наблюдали снижение стимулирующего действия индолилуксусной кислоты. В тоже же время, выявля-

Рисунок 1 — Влияние фитогормонов на образование биомассы *P. ostreatus*

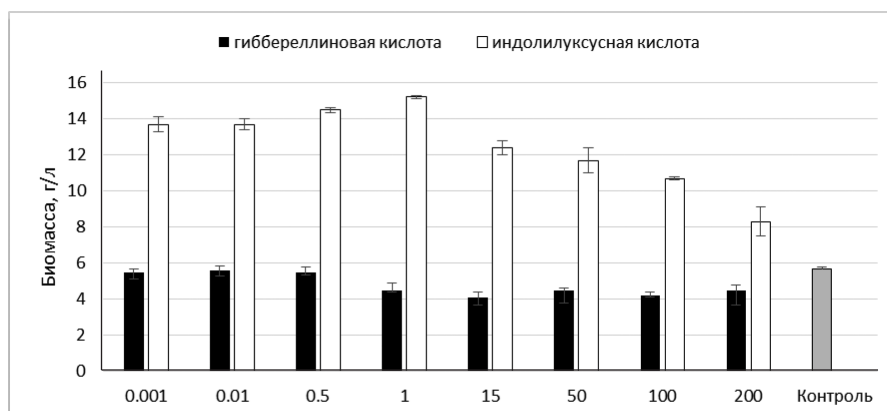
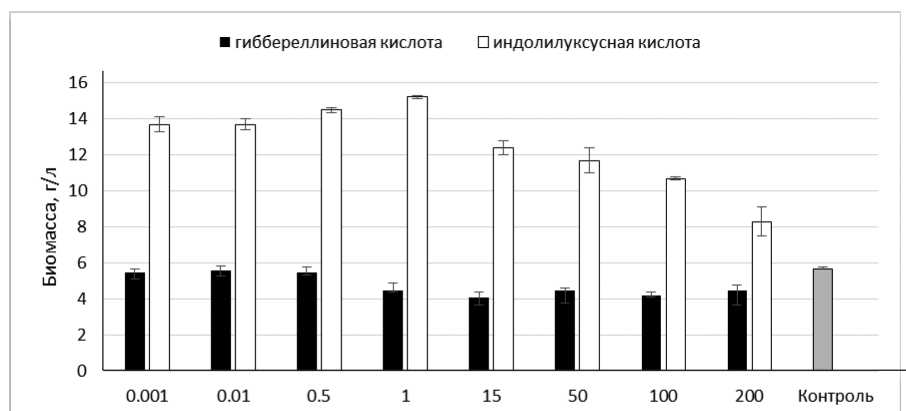


Рис. 2 — Влияние фитогормонов на образование биомассы *P. eryngii*

но практически одинаковое образование биомассы *P. ostreatus* при наличии в среде гиббереллиновой кислоты в концентрациях 0,001, 0,01, 0,5 и чуть меньшее количество — в остальных концентрациях.

В отношении *P. eryngii* исследуемые фитогормоны оказывали противоположное действие по сравнению с *P. ostreatus* (рис. 1, 2). Причем, установлено стимулирующее действие гиббереллиновой кислоты на образование биомассы *P. eryngii* в определенных концентрациях: наиболее малых (0,01, 0,01 мг/л), в низкой (1 мг/л) и в более высоких (50–200 мг/л). Увеличение выхода биомассы по сравнению с контролем составило 1,24–1,28 раза в концентрациях 1, 50, 100 и 200 мг/л. Индолилуксусная кислота во всех концентрациях негативно влияла на рост этого вида гриба (рис. 2).

Полученные нами результаты отличаются от данных других исследований. Ранее, отмечалось положительное влияние гиббереллина (1, 10, 50, 100 мг/л) на скорость радиального роста *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *P. pulmonaris* на кукурузном, глюкозо-аммонийном и глюкозо-аспарагиновом агаре и стимуляция роста *P. ostreatus* на жидкой глюкозо-аммонийной среде [4]. Вместе с этим, на кукурузном агаре установлено стимулирующее действие гиббереллина и в низких концентрациях (0,02, 0,002 мг/л) на скорость роста мицелия *P. ostreatus* в фазе линейного роста [6]. Также на этой агаризованной среде получено увеличение скорости радиального роста *P. ostreatus* при использовании низких концентраций фитогормонов: 0,0005 гиббереллина, 0,0001 индолилуксусной кислоты [5]. Применение гиббереллина в концентрации 200 мг/л в аспарагин-глюкозном агаре способствовало значительному увеличению этого фитогормона в молодом мицелии *P. ostreatus* [8]. Стимулирующее действие гиббереллиновой кислоты описано для мицелиального роста *P. eryngii* только в концентрации 15 мг/л на картофельно-декстрозной среде [2].

Анализ литературы о влиянии фитогормонов и полученные наши результаты свидетельствует о наличии разрозненных данных, вероятно, связанных с некоторыми факторами: влиянием внесения одних стимуляторов роста на уровни других эндогенных регуляторов,

действием фитогормонов на разные стадии вегетативного роста мицелия, использованием различных питательных сред, особенно натурального происхождения, а также может быть обусловлено наличием штаммоспецифического признака вида гриба и географического происхождения штаммов исследуемых видов. Согласно проведенным нами исследованиям, рекомендовано использовать фитогормоны в концентрации 1 мг/л: для увеличения биомассы *P. ostreatus* — индолилуксусную кислоту, а для *P. eryngii* — гиббереллиновую кислоту.

Список литературы

1. Программа «Нулевой голод». XX сессия Комитета по лесному хозяйству ФАО. Рим: COFO FAO. 2014. 5 с.
2. Islam M.F., Khair A. and Islam M.M. (2009). Effect of growth regulators on the mycelial growth of *Pleurotus eryngii* on PDA at the optimum pH level. *South Asian Journal of Agriculture*, 4 (1&2): 85–88.
3. Hedden P., Sponsel V. (2015). A Century of Gibberellin Research. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34: 740–760. DOI 10.1007/s00344–015–9546–1.
4. Кузнецова О.В. Застосування фітогормонів у біотехнології грибів. Lviv Polytechnic National University Institutional Repository <http://ena.lp.edu.ua>
5. Заколесник Н.В. (2006). Вплив регуляторів росту на процес утворення примордіїв *Pleurotus ostreatus*. «Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія», 4(748): 134–138.
6. Кузнецова О.В. (2011). Вплив стимуляторів росту на розвиток вегетативного міцелію *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. *Біотехнологія*, 4(3): 82–89.
7. The IBK mushroom culture collection. (2016). Bisko N.A, Lomberg ML, Mytropolska N.Y, Mykchaylova O.B. National Academy of Sciences of the Ukraine. Kyiv, Alterpres. 120 p.
8. Vinklárková K., Sladký Z. (1978). Exogenous regulators in the mycelium of *Pleurotus ostreatus* after exogenous application. *Folia Microbiol* 23: 55–59.

ТРОПИЧЕСКИЕ ВИДЫ РОДА *GANODERMA*: БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗШнырева А.В.¹, Эспиноза В., Тригос А.²¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова²Университет Веракрузана, Халапа, Вераacruz, Мексика

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

Из собранных в природе плодовых тел были получены чистые мицелиальные культуры, хлороформ-метанольные (1:1) экстракты которых изучали на предмет биологической активности. Противоопухолевую активность тестировали на шести линиях опухолевых клеток человека: HBL-100 и T-47D (молочная железа), HeLa (шейка матки), A2780 (яичник), SW1573 (легкие) и WiDr (толстая кишка). Штаммы *G. tuberculosum* (GVL-04 и GVL-26), *G. tornatum* (GVL-05) и *G. weberianum* (GVL-17, GVL-26) проявили противоопухолевую активность по отношению хотя бы одной клеточной линии и подавляли рост опухолевых клеток в концентрации экстрактов менее 50 мкг/мл.

Антиоксидантную активность экстрактов ганодерм определяли по способности элиминировать свободные радикалы с помощью DPPH-теста (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Степень обесцвечивания раствора DPPH при добавлении экстрактов определяли спектрофотометрически при длине волны 517 нм; результаты выражали в мкМ эквивалента Trolox на мг экстракта (мкМ TE / мг) и в процентах к эффективности Trolox-эквивалента. Штаммы *G. tuberculosum* (GVL-21)

и *G. martinicense* (GVL-35) характеризовались наилучшей антиоксидантной активностью со значениями 62,5 и 40 мкМ TE/мг экстракта. Причем, экстракты этих штаммов содержали наибольшее количество фенольных соединений — 26,9 и 15,8 эквивалента галловой кислоты на 1 мг экстракта соответственно.

Антибактериальную активность экстрактов мицелия видов *Ganoderma* тестировали в отношении клинически грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*) и грамположительной (*Staphylococcus aureus*) бактерий, а также по отношению фитопатогенных видов — *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas albilineas* и *Risobium radiobacter*. Большинство экстрактов продемонстрировали антибактериальную активность по отношению к фитопатогенной актинобактерии *C. michiganensis* в диапазоне концентраций от 1000 до 31,5 мкг/мл. Несмотря на предсказуемость полученных результатов, антибактериальная активность по отношению к фитопатогену *C. michiganensis*, вызывающему поражение томатов, продемонстрирована впервые и представляет определенный практический интерес.

Филогенетический анализ проводили с использованием данных секвенирования ITS последовательности кластера генов рДНК и 29 дополнительных последовательностей из GenBank в качестве референсных видов. Штаммы GVL-05 и GVL-32, собранные с мертвой древесины, попали в кластер *G. tornatum* — единственную в этом исследовании группу «нелакированных» трутовиков. Известно, что виды *G. tornatum* довольно широко распространены в тропических и субтропических зонах [6]. Интересно, что наиболее близкий этому виду другой, приуроченный к лиственным породам, вид *G. lobatum* относится к видам ганодерм с блестящей лакированной поверхностью плодовых тел. Близкое родство этих двух видов ганодерм было подтверждено нами в филогенетическом анализе со 100%-ной бутстреп-поддержкой. Один из штаммов ганодерм (GVL-28) попал в кластер двух близкородственных видов *G. meredithae* — *G. curtisii*. Согласно Лойду и соавторам [7], образцы, собранные на субстратах лиственных пород, следует классифицировать как вид *G. curtisii*, тогда как *G. meredithae* следует считать физиологическим вариантом *G. curtisii* со средством к колонизации сосен. Штамм GVL-28, обнаруженный на живом дереве *Acacia pennatula* и показавший высокий уровень сходства с референсными последовательностями из GenBank, был идентифицирован нами как *G. curtisii*. Два штамма GVL-23 и GVL-09, обнаруженные на живой сосне *Pinus sp.*, были отнесены к неотропическому виду *G. multiplicatum*, впервые описанному в Южной Америке, а впоследствии обнаруженному в Африке и Азии. Близким родственником этому неотропическому виду является вид *G. martinicense* (штамм GVL-35), впервые обнаруженный на острове Мартиника (Французская Вест-Индия). Как показано в нашем анализе, клада *G. multiplicatum* — *G. martinicense* является сестринской

по отношению к кладе *G. curtisii*, что полностью совпадает с результатами филогенетического анализа Лойд с соавторами [7]. Согласно авторам, другой вид — *G. tuberculosum* (штаммы GVL-21, GVL-39, GVL-40 и GVL-04) — тоже приурочен к тропическим местообитаниям. Интересно, что мексиканские штаммы *G. tuberculosum* в нашем исследовании оказались как сапротрофными, так и слабопатогенными агентами древесных пород, вызывающими первичное разложение древесины, например, *Ficus sp.* Наиболее противоречивыми оказались результаты анализа принадлежности трех штаммов (GVL-17, GVL-31 и GVL-26) виду *G. weberianum*, также распространенному в местах с тропическим климатом. Штаммы были обнаружены на живых стволах дуба и акации. Однако, эти штаммы вместе с референсными последовательностями из Генбанка показали наибольшую вариабельность ITS последовательностей. Причем в кластер *G. weberianum* попали последовательности другого морфологически близкородственного вида — *G. subamboinense var. laevisporum*. Лойд с соавторами [7] рассматривают оба этих вида как комплексный вид *G. weberianum / subamboinense*, который нуждается в дальнейшем исследовании его дифференциации с привлечением большего количества природных образцов. Таким образом, нам удалось обнаружить новые виды рода *Ganoderma* на территории провинции Веракруз в Мексике, а также охарактеризовать биологическую активность видов *Ganoderma*, приуроченных как к тропическим местообитаниям, так и повсеместно встречающихся в регионах с различным климатом.

битаниям, так и повсеместно встречающихся в регионах с различным климатом.

Список литературы

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

ПРОИЗВОДСТВО ШАМПИНЬОНА ПУТЕМ МУЛЬТИБИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ БИКУЛЬТУРЫ ШИИТАКЕ И ВЕШЕНКИ

Титова Ю.А.

ВНИИ защиты растений, Санкт-Петербург

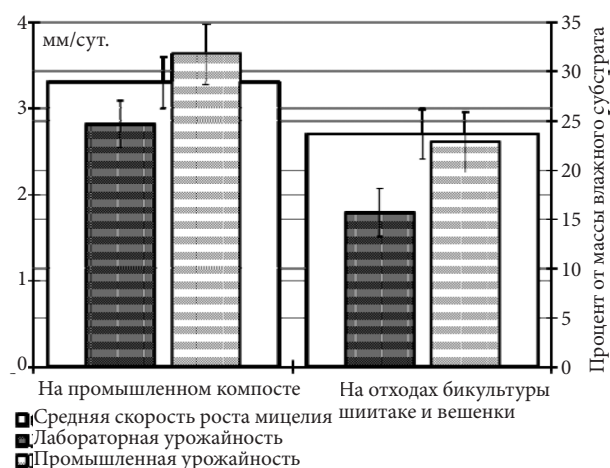
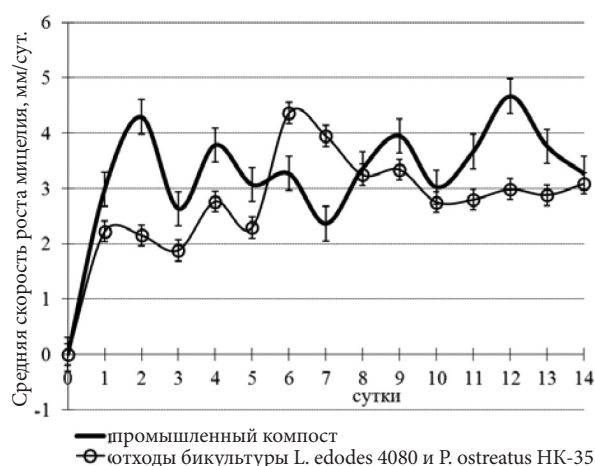
Культивируемый шампиньон — лидер мирового промышленного производства съедобных грибов [1,2]. Выращивают этот гумусовый сапротроф уже много столетий на наиболее сложном по составу и в приготовлении субстрате [2,3]. В связи с этим постоянно разрабатываются более простые субстраты для эффективного культивирования шампиньона с коротким сроком компостирования [4–7]. В частности, используют субстраты после культивирования вешенки и шиитаке [8–10]. Именно эти ксилотрофные базидиомицеты, способны к активному разложению лигнина отходов техногенной сферы до его полной минерализации [11–13]. В мультиконвертируемом субстрате увеличивается содержание общего азота на 28–47 %, витаминов, минеральных элементов и биологически активных веществ [14,15]. Вышеизложенные данные свидетельствуют о целесообразности использования отходов бикультуры шиитаке и вешенки путем их мультибиоконверсии в культивировании шампиньона [10]. Цель настоящей работы — охарактеризовать мультибиоконверсию отходов бикультуры съедобных макромицетов *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 4080 (шиитаке) и *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. НК-35 (вешенки) с помощью *Agaricus*

bisporus (J.E. Lange) Imbach X-22 (шампиньона). Для достижения поставленной цели решали следующие задачи: оценить эффективность мультибиоконверсии шампиньонном конверсионных отходов бикультуры шиитаке и вешенки в лабораторных и производственных условиях по параметрам скорости роста, морфогенеза и урожайности. Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ВИЗР. Материалами исследований были компост и покровная почва для промышленного культивирования шампиньона ЗАО «Приневское» (Ленинградская обл.), отработанный после последовательной бикультуры шиитаке и вешенки — двукратно конверсионный субстрат. Для получения и хранения чистых культур макромицетов и их инокулюмов использовали агаризованные и жидкие питательные среды, полусинтетические и синтетические [10, 16]: среда Чапека; среды на основе экстрактов грибов и конверсионных субстратов. Приготовление субстратов и мелкообъемное лабораторное и полупромышленное культивирование в чашках Петри, стеклянных банках (250 мл, 500 мл) и ящиках (3 кг) осуществляли по современной технологии [2,10,14]. Стерилизацию конверсионного субстрата

Таблица — Эффективность биоконверсии субстратов с помощью *A. bisporus* X-22

Показатель эффективности биоконверсии субстратов с помощью <i>A. bisporus</i> X-22	Промышленный компост	Отходы бикультуры <i>L. edodes</i> 4080 и <i>P. ostreatus</i> НК-35
Коэффициент изменения периода наступления переходной стадии	1,0	1,0
Число генеративных образований (примордии/базидиомы), шт./м ² ±SEM	3435±469,6/ 215±31,1	1840±292,4***/155±15,4*
Урожайность (лабораторная/промышленная), % от массы влажного субстрата (I волна плодоношения)±SEM	24,6±3,3/31,7±4,6	15,6±1,3**/22,8±2,3*

Примечание: * — достоверно при $p \geq 0,10$; ** — $p \geq 0,05$; *** — $p \geq 0,01$.



проводили при 133 °С в течение 1 час с охлаждением до 24–26 °С для инокуляции чистой или маточной культурой *A. bisporus* X-22, инкубирование осуществляли при 22–24 °С до полного обрастания субстрата. Гобтировку проводили покровной смесью на основе верхового торфа с добавками 0,5% мела и 1% гипса. Инокулом шампиньона поддерживали на грибном агаре, агаризованном водном экстракте конверсионного отхода бикультуры и использовали для инокуляции отходов в стерильных условиях. Эффективность мультибиоконверсии *A. bisporus* X-22 оценивали по скорости линейного роста (мм/сут.); времени наступления морфогенеза; количеству генеративных образований и урожайности [10]. В качестве контроля использовали компост для промышленного культивирования шампиньона. Для статистической обработки результатов применяли расчеты производных, стандартных ошибок (SEM) и t-критерия Стьюдента для попарного сравнения вариантов (Microsoft Excel 2010, Statistica 6).

Динамика средней скорости роста мицелия *A. bisporus* X-22 на мультиконверсионном отходе бикультуры *L. edodes* 4080 и *P. ostreatus* НК-35 сходна с таковой на промышленном компосте: максимальные скорости роста мицелия в обоих случаях в пределах ошибки измерений, фиксировали на 6-е и 12-е сутки роста макромицета соответственно (рис. 1а). Анализ данных, представленных на рисунке и в таблице, свидетельствует о высокой эффективности мультибиоконверсии *A. bisporus* X-22 отходов бикультуры шиитакэ и вешенки. Наблюдали колонизацию плотным ватообразно-тяжистым мицелием шампиньона исследованного конверсионного субстрата, активный

шок-эффект на 3 сутки после гобтировки и значительное количество примордиев (таблица).

Средняя скорость роста мицелия шампиньона на отходах бикультуры шиитакэ и вешенки недостоверно в 1,2 раза была ниже контрольных значений на компосте, а количества генеративных образований (примордиев и базидиом) — достоверно ниже таковых в контроле — в 1,9 ($p \geq 0,01$) и 1,4 раза ($p \geq 0,10$) соответственно (рис. 1б, таблица). Достоверных различий в начале морфогенеза в опытном и контрольном вариантах на промышленном компосте не выявлено (таблица).

Лабораторная и промышленная урожайности (I волна плодоношения) были достоверно ($p \geq 0,10$) ниже контрольных показателей, полученных на промышленном компосте, что обусловлено выносом питательных элементов из субстрата базидиомами *L. edodes* 4080 и *P. ostreatus* НК-35 (таблица). Тем не менее, урожайность *A. bisporus* X-22 на мультиконверсионном отходе бикультуры шиитакэ и вешенки только за I-ю волну плодоношения превысила 20 % от массы влажного субстрата.

Представленные данные свидетельствуют о возможности использования отходов последовательной бикультуры шиитакэ и вешенки в интенсивной трикультуре съедобных макромицетов шиитакэ, вешенки и шампиньона с предполагаемыми высокими показателями рентабельности. Кроме того, уменьшение отношения C:N и увеличение в процессе мультибиоконверсии растворимых питательных компонентов в отработанных субстратах делает их легкодоступными для усвоения другими микроорганизмами [8–10,15].

Список литературы

1. Sánchez C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010. 85(7):1321–1337 DOI 10.1007/s00253-009-2343-7.
2. Stamets P. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms.* Ten Speed Press. 2016. 1320 p.
3. Sánchez C. Modern aspects of mushroom culture technology. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004. 64(6):756–762 DOI: 10.1007/s00253-004-1569-7.
4. Дорожкина Л.А., Коваленко А.С., Селицкая О.В. Усовершенствование технологии приготовления компоста при выращивании шампиньонов. *Агро XXI.* 2000. 4:22–23.
5. Toker H., Baysal E., Yigitbasi O.N., Colak M., Peker H., Simsek H., Yilmaz F. Cultivation of *Agaricus bisporus* on wheat straw and waste tea leaves based composts using poplar leaves as activator material. *Afr J Biotechnol.* 2007. 6:204–212.
6. Bechara M.A., Heinemann P., Walker P.N., Wilkinson V.L., Romaine C.P. Cultivation of *Agaricus bisporus* and *Agaricus blazei* on substrate composed of cereal grains and oilseeds. *Biol Eng.* 2008. 1:65–78.
7. Nogueira de Andrade M.C., Cunha Z.D., Teixeira de Almeida M.M., Kopytowski F.J. Yield of four *Agaricus bisporus* strains in three compost formulations and chemical composition analyses of the mushrooms. *Braz J Microbiol.* 2008. 39:593–598 DOI: 10.1590/S1517-838220080003000034.
8. Xiao C. Studies on mushroom re-cultivation on use compost waste. In: *Proc Int Symp Sci Cultiv Mushrooms.* Nanjing, China. 1998:56.
9. Siddhant, Singh C.S. Recycling of spent oyster mushroom substrate to recover additional value. *Kathmandu University Journal of Science Engineering and Technology.* 2009. 5:66–71.
10. Титова Ю. А. Мультибиоконверсия отходов техногенной сферы съедобными грибами. *Вестник защиты растений.* 2016. 3(89):166–168.
11. Capelari M., Zadrazil F. Lignin degradation and in vitro digestibility of wheat straw treated with Brazilian tropical species of white rot fungi. *Folia Microbiol.* 1997. 42:481–487 DOI: 10.1007/BF02826558.
12. Sánchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Adv.* 2009. 27:185–194 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.11.001.
13. Martinez A.T., Speranza M., Ruiz-Duenas F.J., Ferreira P., Camarero S., Guillen F. et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int Microbiol.* 2005. 8: 195–204.
14. Бисько Н.А., Дудка И.А. Биология и культивирование съедобных грибов рода вешенка. Киев: Наук. думка. 1987. 148 с.
15. Титова Ю.А., Новикова И.И., Бойкова И.В., Павлюшин В.А., Краснобаева И.Л. Мультибиоконверсионные твердофазные биопрепараты нового поколения на основе *Bacillus subtilis* и *Trichoderma asperellum* повышают эффективность защиты картофеля от фитофтороза. *Сельскохозяйственная биология.* 2019. 54(5):1002–1013 DOI: 10.15389/agrobiology.2019.5.1002rus
16. Методы экспериментальной микологии: Справочник. Под ред. В. Н. Билай. Киев: Наук. думка. 1982. 550 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ СИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ШТАММОМ ГРИБА *PLEUROTUS OSTREATUS* BDU-12

Зейналова Л.А., Керимова Е.Р., Сулейманова Г.Ч., Гасанова С.А.
Бакинский Государственный Университет, Азербайджан

Во многих развитых странах широкомасштабный синтез металлических наночастиц осуществляется с использованием физических, химических и биологических методов.

В последнее время особое внимание уделяется использованию биологических методов при синтезе наночастиц. Основываясь на процессе биологического синтеза наноструктур, существует 3 основных условия — использование растворителей среднего размера для синтеза, выбор экологически чистых агентов и выбор нетоксичных материалов для стабилизации наночастиц. Использование биологических объектов при синтезе наночастиц позволяет увеличить биомассу и размер получаемой наночастицы. Особое внимание в этом процессе уделяется применению бактерий и микроскопических грибов.

Основной целью представленной работы является изучение способности *Pleurotus ostreatus* образовывать наночастицы серебра. Эти грибы также используются в качестве пищевых продуктов. В то же время они

синтезируют ферменты с широким спектром хищных грибов. Они могут парализовать нематоды в результате летального воздействия.

Штамм *Pleurotus ostreatus* BDU-12 были взяты из коллекции культур кафедры микробиологии Бакинского Государственного Университета. Культивирование гриба проводили на среде, которая содержит глюкозу, пептон, NH_4NO_3 , NaCl , MgSO_4 , KH_2PO_4 . Инкубация проводилась в течение 7–14 дней. Биомасса была отделена фильтратом. Извлеченную биомассу трижды промывали 100 мл стерильной дистиллированной воды. Затем добавляли 10^{-3} AgNO_3 на 100 мл жидкости и помещали в термостат. С 10-го дня инкубации цвет реакционных смесей, хранящихся в термостате, начал заметно меняться от светло-желтого до темно-коричневого. Затем проводили спектрофотометрический анализ. Спектры поглощения 400–450 нм наблюдали на спектрофотометре UV — VIS. Это поглощение характерно для частиц наночастиц серебра. Это, в свою очередь, подтверждает, что гриб *Pleurotus ostreatus* синтезирует наночастицы серебра.

ПЛЕНКИ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ *GANODERMA LUCIDUM* ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ СЕНСОРНЫХ ПОКРЫТИЙ АКУСТОЭЛЕКТРОННЫХ ДАТЧИКОВ КОНТРОЛЯ ВОЗДУХА

Зиангирова М.Ю.¹, Гольшикин А.В.¹, Смирнов А.В.², Асафьев Н.О.³,
Краснопольская Л.М.¹, Колесов В.В.², Кузнецова И.Е.²

¹ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

² ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН, Москва

³ Технологический институт сверхтвердых и новых углеродных материалов, Троицк

Разработка новых типов акустических газовых датчиков зачастую связана с созданием новых сенсорных пленок. Недавно было предложено для получения таких пленок использовать метаболиты базидиальных грибов *Lentinus edodes* (Berk.) Singer и *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. (1, 2). Целью настоящей междисциплинарной работы явилось создание и исследование биосенсорных элементов для акустоэлектронных газовых датчиков нового поколения на основе органических пленок с использованием метаболитов базидиального гриба *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.

В результате проведения исследований предложена методика получения органических пленок на основе экстрактов биомассы *G. lucidum* для использования в акустоэлектронных газовых сенсорах. Для получения мицелия гриба была подобрана рецептура жидкой ферментационной среды. Поставленной задаче создания акустических сенсоров отвечали только среды, отвечающие трофическим потребностям исследуемого штамма и представляющие собой раствор. Нерастворимые в воде ингредиенты были нежелательны, так как было сложно контролировать их полное усвоение и, как следствие, гарантировать отсутствие в пленках соединений негрибного происхождения.

Проведенное погруженное культивирование культуры базидиомицета на подобранной жидкой питательной среде позволило получить биомассу гриба в сухом и гомогенизированном виде и ее экстракты с использованием в качестве растворителей воды и водно-этанольных смесей с их разными объемными соотношениями.

Показано, что при добавлении водного экстракта биомассы *G. lucidum* к измельченной биомассе *G. lucidum*, тщательном перемешивании и нанесении на подложку возможно получение тонкой равномерной пленки. Равномерные тонкие пленки были также получены при нанесении на подложку водного и водно-этанольных экстрактов *G. lucidum*. Однако такие пленки имели низкую механическую прочность, особенно в среде с высоким содержанием водяного пара, за счет набухания полисахаридов в ее составе.

Один из возможных путей получения пленок на основе метаболитов *G. lucidum* с необходимыми механическими свойствами для создания газового датчика является включение в состав пленок структурообразующих полимерных материалов. В настоящей работе исследовали пленки, получаемые при полимеризации составов на основе экстрактов биомассы базидиоми-

цета и смеси этилгексилакрилата, метакриловой кислоты, фотоинициатора (гидроксиалкилфенон), растворенных в ацетоне. Было показано, что эти пленки отличались высокой пористостью и адсорбирующей способностью, высокой скоростью высыхания и полимеризации, а также высокой адгезионной способностью.

Было проведено изучение влияния органических пленок на параметры композитного многообертонового резонатора на объемных акустических волнах (ОАВ-резонатор) на основе алмаза. В качестве базы использовалась сенсорная пьезоэлектрическая слоистая структура «Al/AlN/Mo/(100) алмаз». В качестве материала подложки был использован синтетический (100) монокристаллический алмаз IIa типа, выращенный методом температурного градиента при высоких температурах и давлении. В процессе эксперимента на свободную поверхность алмаза наносили различные образцы экстрактов мицелия с добавлением и без сухой биомассы. После высыхания и образования пленки снимались амплитудно-частотные характеристики ОАВ-резонатора в виде зависимости реальной части импеданса Z_{11e} как функции частоты. Нанесение органических пленок на основе метаболитов *G. lucidum* на алмазную поверхность показало возможность получения покрытий, которые не влияют существенно на добротность ОАВ-резонатора вплоть до операционных частот ~3.1 ГГц. Применение таких операционных частот позволит реализовать наибольшую относительную чувствительность акустоэлектронного сенсора. В результате исследований СВЧ параметров ОАВ-резонатора показано, что наиболее перспективными, образующие относительно тонкие пленки, являются образцы на основе водных и водно-этанольных экстрактов без добавления сухой биомассы и полимеризующего состава.

Список литературы

1. Kuznetsova I. E., Zaitsev B. D., Shikhabudinov A. M., Tsivileva O. M., Pankratov A. N., Verona E. Acousto-electronic gas sensor based on mushroom mycelial extracts // Sensors and Actuators B: Chemical. — 2017. — Vol. 243. — P. 525–531.
2. Teplykh A., Zaitsev B., Borodina I., Semyonov A., Ziangurova M., Almyasheva N., Golyshkin A., Krasnopolskaya L. and Kuznetsova I. The study of the mechanical properties of thin films using piezoceramic acoustic resonators // ITM Web of Conferences. — 2019. — Vol. 30. — Article Number 07002.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ РОСТА *PLEUROTUS NEBRODENSIS* В КУЛЬТУРЕЗленко Д.С.¹, Бойко О.А.¹, Круподерова Т.А.², Барштейн В.Ю.², Кваско А.Ю.²¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев²ГУ "Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины", Киев

В последнее время все больший интерес исследователей привлекает достаточно редкий гриб *Pleurotus nebrodensis*, вид, входящий в род Вешенка (*Pleurotus*) семейства Вешенковые (*Pleurotaceae*). В природе он встречается на севере острова Сицилия (Италия) и засушливых районах Синьцзян-Уйгурского автономного района Китая. Только в 1983 году гриб был успешно выращен в искусственных условиях на еловой щепе и отходах хлопкового производства китайскими учеными [1]. По другим данным это произошло в 1987 году. Субстрат состоял из: 85% отходов хлопкового производства, 14% пшеничных отрубей и 1% гипса [2]. Современные исследователи считают *P. nebrodensis* недавно ставшим популярным грибом, обладающим некоторой сложностью в культивировании и достаточно высокой стоимостью [3].

Интерес к *P. nebrodensis* связан не только с приятным вкусом и ароматом, но и обилием биологически активных веществ, включающих олеиновую и ненасыщенные жирные кислоты, протеины, аминокислоты и ряд микроэлементов, таких как кальций, цинк и марганец [3]. Все эти вещества обеспечивают ряд уже исследованных физиологических эффектов: профилактику сердечно-сосудистых заболеваний и рахита [1], иммунологическую активность полисахаридов *P. nebrodensis* [4], антиоксидантные, противовирусные и противоопухолевые свойства [5,6].

Как и в большинстве исследований, связанных с грибами, изучаются проблемы культивирования пло-

довых тел. Вместе с тем, мицелий обладает, зачастую, не меньшим набором биологически активных веществ и значительно превосходит культивирование плодовых тел экономически. Не следует забывать и о физиологической активности культуральной жидкости. Детальное исследование влияния условий культивирования на получение максимального количества биомассы с оптимальным содержанием физиологически активных метаболитов является весьма актуальным, учитывая минимальное количество таких работ [1,7].

Целью нашей работы являлось изучение особенностей роста *P. nebrodensis* в чистой культуре.

Объектом исследований был *Pleurotus nebrodensis* (Inzenga) Quel. штамм 2035 из Коллекции культур Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины (IBK) [8].

Изучение влияния температуры, кислотности на рост гриба проводили на глюкозо-пептон-дрожжевой среде, влияние источников углерода и азота — на глюко-аспарагиновой среде путем стационарного жидкофазного культивирования при оптимальной температуре. В качестве источников углерода использовали моносахариды (глюкоза, арабиноза, фруктоза, галактоза, ксилоза, декстроза, лактоза), дисахариды (мальтоза, сахароза), полисахариды (растворимый крахмал, целлюлоза) и маннит. В глюкозо-аспарагиновой среде глюкозу заменяли на соответствующий источник углерода в пересчете на 12 г С/л (где чистый углерод на литр рассчитывается по процентному содержанию элемента углерода в молекуле). Аналогичным образом, аспарагин заменяли различными источниками азота (сульфат аммония, нитрат аммония, пептон, нитрат натрия, дрожжевой экстракт, мочевины) в пересчете на 0,96 г N/л (где чистый азот на литр рассчитывается по процентному содержанию элемента азота в молекуле).

В качестве инокулюма использовали 3 мицелиальных диска диаметром 8 мм, вырезанные с помощью пробойника из зоны активного роста семисуточной культуры штамма на агаризованной глюкозо-пептон-дрожжевой среде. На 14 сутки роста проводили учет накопления биомассы весовым методом, высушивая при 105 °С до постоянного веса. Все эксперименты проводили в трех повторностях.

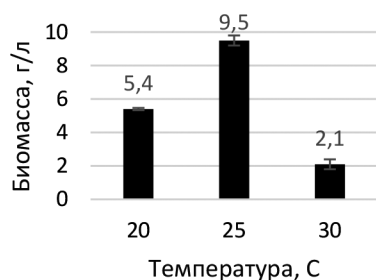
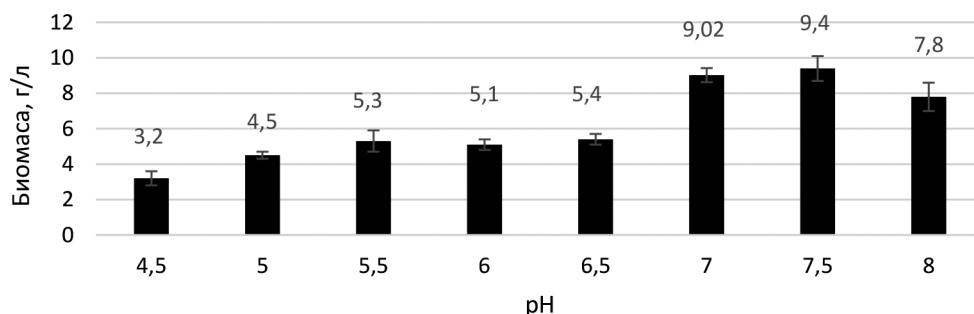
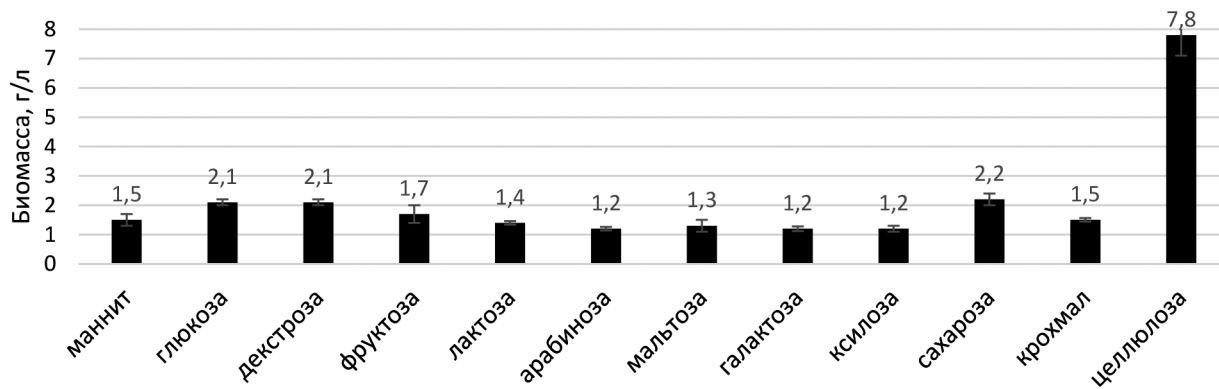
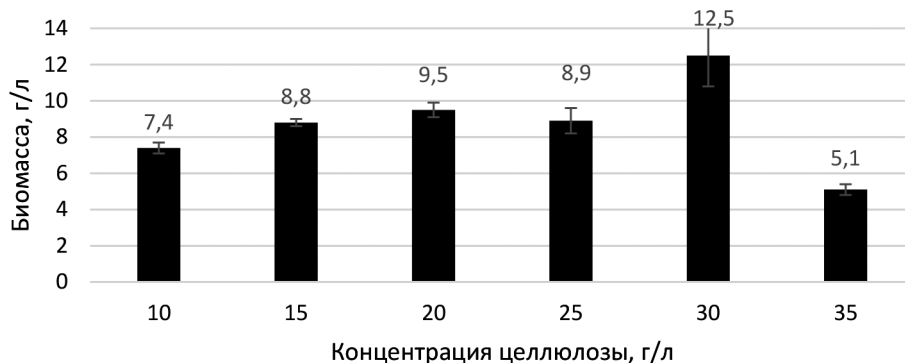
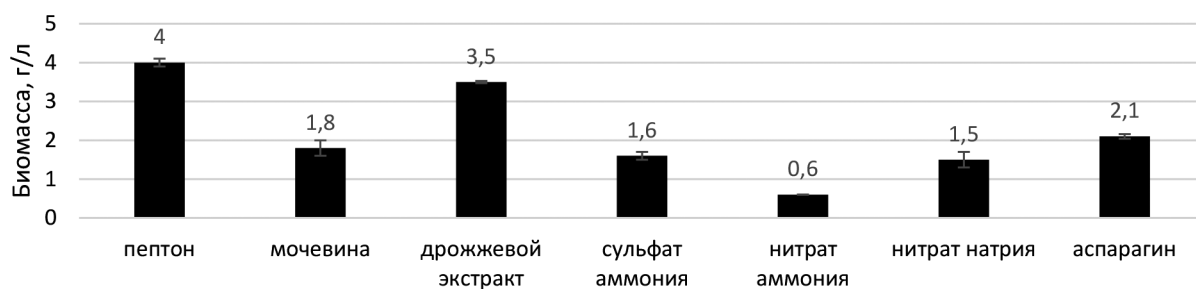
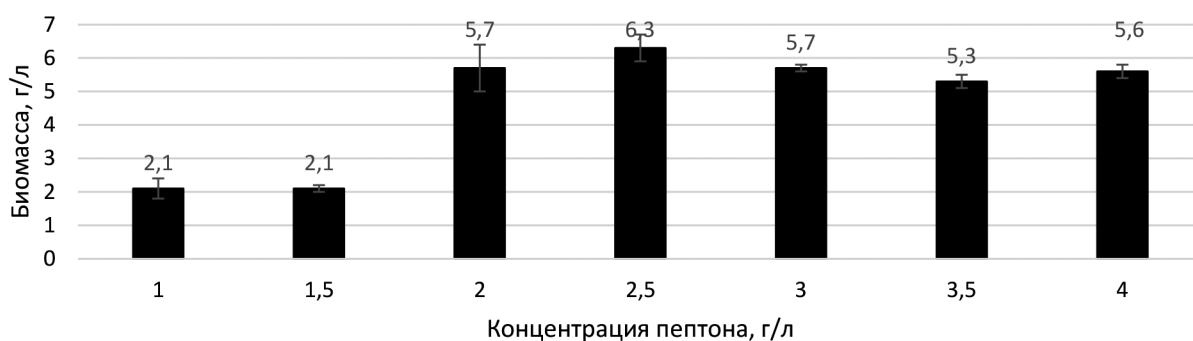
Рисунок 1 — Влияние температуры на образование биомассы *P. nebrodensis*Рисунок 2 — Влияние значения концентрации водородных ионов на образование биомассы *P. nebrodensis*

Рисунок 3 — Влияние источников углерода на образование биомассы *P. nebrodensis*Рисунок 4 — Влияние концентрации целлюлозы на образование биомассы *P. nebrodensis*Рисунок 5 — Влияние источников азота на образование биомассы *P. nebrodensis*Рисунок 6 — Влияние концентрации пептона на образование биомассы *P. nebrodensis*

Разработка технологии культивирования биотехнологически перспективных видов грибов прежде всего подразумевает подбор необходимых условий для их культивирования. Одним из этапов такого подбора является определение оптимальной температуры для роста мицелия. В результате экспериментов установлено, что оптимальная температура для образования биомассы *P. nebrodensis* составляет + 25 °C (рис. 1), что

полностью согласуется с результатами других исследований [1, 7] и почти аналогична данным Бисько и Митропольской [9], которые отмечали наилучшие показатели роста этого вида для четырех штаммов при температуре +26–27°C.

Одним из важных физико-химических факторов среды, который оказывает постоянное воздействие на физиологическую активность культуры, является

концентрация водородных ионов (рН). Исследуемый штамм гриба способен был расти в широком диапазоне рН, но наилучшие показатели синтеза биомассы установлены при рН 7–7,5 (рис. 2). Аналогичный характер роста в широком диапазоне рН отмечали и Choi et al. [7], с оптимальными значениями рН 6,5–7,0.

Необходимым для понимания физиологии и процессов метаболизма грибов является изучение их трофических потребностей. Соединения, содержащие углерод, необходимы для снабжения этим элементом синтеза веществ живой клетки и принимают непосредственное участие в процессах окисления в качестве источника энергии. Использование в экспериментах различных источников углерода позволило нам выявить безусловное предпочтение целлюлозы для образования мицелия *P. nebrodensis* (рис. 3), в концентрации 30 г/л (рис. 4). Однако, способность усваивать источники углерода в значительной степени является штаммоспецифическим признаком. Другие исследователи в качестве оптимальных источников углерода для роста *P. nebrodensis* отмечали глюкозу [7], мальтозу [1, 9] и сахарозу [9].

Учитывая, что азотсодержащие соединения составляют основу белков и играют значительную роль в обмене веществ у грибов, важно правильно подобрать источник азота для обеспечения роста мицелия. Максимальное количество биомассы *P. nebrodensis* получено при использовании пептона (рис. 5), в концентрации 2,5 г/л (рис. 6). Пептон был также оптимальным для роста четырех штаммов *P. nebrodensis* [9]. Следует отметить хороший рост исследуемого штамма и при использовании дрожжевого экстракта. В других исследованиях наилучшим источником азота были полипептон [7] и дрожжевой экстракт [1].

Выращивание биомассы базидиомицетов в чистой культуре является современным актуальным направлением в разработке нескольких направлений, направленных на получение продуктов пищевого и кормового назначения, создание на основе биомассы базидиомицетов лекарственных препаратов и безотходной переработки сырья. В связи с этим, перспективным направлением прикладных микологических и биотехнологических исследований является поиск оптимальных условий для культивирования грибов, которые могут позволить снизить стоимость получаемой грибной продукции. Результаты серии экспериментов, проведенных с целью определения опти-

мальных условий культивирования, свидетельствуют о целесообразности использования для накопления биомассы *Pleurotus nebrodensis* температуры +25 °С, рН питательной среды на уровне 7,0–7,5, целлюлозы и пептона, в концентрации 30 г/л и 2,5 г/л, соответственно.

Список литературы

1. Le J., Hu S., Xu M. (2007). Optimisation of submerged culture conditions for the production of mycelia biomass and exopolysaccharide by *Pleurotus nebrodensis*. *Annals of Microbiology*, 57(3): 389–393.
2. Zhang J., Huang Ch., Li C. (2005). The cultivars of *Pleurotus nebrodensis* in China. Fifth international conference on mushroom biology and mushroom products, Shanghai, China: programme and abstracts: 350–351.
3. Liu S., Liu Wu X., Ke B. (2016). Correlation between mating compatibility and the phylogenetic relationship of a rare edible mushroom, *Pleurotus nebrodensis*, with different *Pleurotus* species. *Int. J. Agric. Biol.*, 18: 198–203.
4. Gan Y., Lv Z.Z. (2001). Studies on physical and chemical properties and immunological activities of polysaccharides from *Pleurotus ferulae*. *Mycosystema*, 20: 228–232.
5. Zheng L., Huang Y.C., Gao Q.X., Pu X., Li S.F., Bi Y.R. (2005). Antioxidative and antitumor activities of the crude extracts of *Pleurotus eryngii* var. *nebrodensis*. *Mycosystema*, 24: 71–78.
6. **Golak-Siwulska I., Kałużewicz A., Spiżewski T., Siwulski V., Sobieralski K. (2018). Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.). *Folia Hortikulturae*, 30(2): 191–201.**
7. Choi D.B., Nam H.G., Cha W. (2006). Studies on cultivation and biological activities of *Pleurotus nebrodensis* in zenga. *Korean J. Chem. Eng.* 23: 241–246.
8. The IBK mushroom culture collection. (2016). Bisko N.A, Lomberg ML, Mytropolska N.Y, Mykchaylova O.B. National Academy of Sciences of the Ukraine. Kyiv, Alterpres. 120 p.
9. Бисько Н.А., Митропольская Н.Ю. (2018) *Pleurotus nebrodensis* (Inzenga) Quel. — новый для Украины перспективный для культивирования вид съедобного гриба с лекарственными свойствами. Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології: збірник наукових праць, випуск 4. — Харків: Вид-во НФаУ. С. 40–42.

Именной указатель

А

Абдикарим Г.М. 184
Абдульмянова Л.И. 246, 284, 309
Абдуразаков А.А. 64
Абсалямов С.Я. 371
Авданина Д.А. 387, 389, 449
Аветисян Г.А. 259
Аветисян Т.В. 259
Автономов В. 267
Адамов А.А. 253
Адамян Р.Г. 217
Акильбекова А.И. 184, 328
Акосах Й.А. 255, 415
Актуганов Г.Э. 395 423
Алдобаева И.И. 66
Александрова А.В. 39, 55, 66, 94, 130, 425
Александрова Л.А. 389
Алехова Т.А. 94
Алимова Б.Х. 408
Алкин Н.А. 5
Альмяшева Н.Р. 401
Андреева И.С. 97
Андросова В.И. 151
Аникина Н.А. 379, 381
Антипов Д.И. 208
Антипова Т.В. 257 441
Антонов В.А. 113
Антонов Е.А. 66
Апрышко В.П. 130
Арашкова А.А. 7, 361
Арефьев С.П. 115
Аристархова Е.А. 153
Аршава Н.В. 311
Асатурова А.М. 286
Асафьев Н.О. 465
Асылбек А.М. 92
Атаев Б.У. 67
Атрощенко Д.Л. 449
Ашмарина Л.Ф. 312

Б

Бабынин Э.В. 415
Бадеева Е.К. 415
Байбакова Е.В. 314
Баландайкин М.Э. 445
Балтина И.Ю. 129
Баранов О.Ю. 229
Баранова О.А. 260
Баршгейн В.Ю. 459, 466
Баскунов Б.П. 257, 441
Бахтиерова М.С. 141, 440
Башкатова М.Н. 311
Беккаревич А.О. 419
Белов Д.А. 211
Белова Н.В. 445

Белозерская Т.А. 9
Белозерский М.А. 5
Беломесяцева Д.Б. 50, 209
Белосохов А.Ф. 54, 262
Беляева А.И. 167
Белякова Г.А. 5
Берсанова А.Н. 80
Бивол Ч.М. 399
Биланенко Е.Н. 131, 141, 409
Бирюкова Е.В. 155
Благовещенская Е.Ю. 263, 342
Бобырева Т.В. 359
Богдаев А.Г. 443
Богуспаев К.К. 184, 328
Божко К.Н. 311
Бойко О.А. 459, 466
Бойкова И.В. 384
Бокун Е.А. 300
Болотянская Е.А. 321
Большаков С.Ю. 69, 242
Боме Н.А. 330
Бондаренко С.А. 131, 141, 409
Бондаренко-Борисова И.В. 213
Бондарцева М.А. 181, 445
Борисенко О.А. 397, 421
Борисов Б.А. 99
Борщева Ю.А. 428
Бочков Д.А. 264
Бубнова Т.В. 419
Будаговская О.Н. 326
Будаговский А.В. 326
Буй Т.Л.А. 120
Булгаков Т.С. 213
Бултуров Д. 64
Буркин А.А. 100
Бурова А.А. 369
Буряк Г.А. 97
Быков А.Г. 410

В

Вайсфельд Л.И. 330
Вайшла О.Б. 240
Варфоломеева Е.А. 127
Васильченко В.В. 253, 304
Вдовин А.И. 368
Венжик А.С. 273
Веселовский В.А. 387
Ветчинкина Е.П. 438
Владыкина В.Д. 242
Власенко В.А. 193
Власов Д.Ю. 118, 134
Волков М.Ю. 458
Волкова Г.В. 350, 354
Волкова Г.С. 428
Волобуев С.В. 219, 242, 290
Володина А.А. 67

Волошина А.Д. 415
Воробьева Е.А. 135
Воронин Л.В. 244
Вэньсюэ Л.Ю. 449

Г

Гавзер С.И. 333, 334
Гаврилова О.П. 13
Гаврюшина И.А. 131, 422
Гагкаева Т.Ю. 13
Гадаборашева М.А. 80
Галанина И.А. 161
Галимзянова Н.Ф. 73, 395, 423
Галкина Е.С. 321
Гамалея В.Н. 323
Гамаюнова М.А. 453
Ганнибал Ф.Б. 32, 269
Гарибова Л.В. 451
Гасанова С.А. 464
Гасич Е.Л. 32, 269
Гаффоров Ю.Ш. 64
Гесслер Н.Н. 94
Георгиев А.А. 100
Георгиева М.Л. 100, 131, 422
Гигиняк Ю.Г. 143
Гильванова Е.А. 73, 423
Глулов В.В. 352
Глухова Л.А. 267
Глушакова А.М. 102, 124, 273
Глушко Н.И. 365
Гмошинский В.И. 188
Гойчук А.Ф. 218
Голева, Т.Н. 21
Голованова Т.И. 325
Головченко Л.А. 34, 215, 238
Гольшкин А.В. 401, 465
Гомжина М.М. 269
Гончарова И.А. 7, 143, 361
Горбунова А.О. 204
Гордонова И.К. 402
Горленко М.В. 227
Градов О.В. 404
Гришечкина Л.Д. 270
Грошева Е.В. 326, 335
Гулик Е.С. 406
Гультяева Е.И. 298
Гулямова Т.Г. 246, 284, 309, 427

Д

Давыдов Е.А. 159, 161, 162
Дакиева М.К. 80
Данилова О.А. 10, 141
Дворнина Е.Г. 399, 447
Дедов А.Г. 369, 398
Демидова В.Н. 318
Демидова С.А. 113

Демченко С.И. 443
 Демьяненко Е.В. 317
 Денисенков И.А. 318
 Денисова Н.П. 445
 Дидоренко С.В. 184
 Дишук Н.Г. 34, 215
 Довгань Е.Д. 236
 Долженко В.И. 288
 Домрачева Л.И. 27, 31
 Доронина Н.В. 410
 Доронькина Н.А. 183
 Дробин Ю.Д. 300
 Дудникова С.А. 107
 Дудченко И.П. 265
 Дунаевский Я.Е. 5
 Дьяков М.Ю. 130, 451

Е

Евдокимов А.С. 167
 Евдокимов И.В. 227
 Едгорова Н.Т. 427
 Ежкин А.К. 161
 Еланский А.С. 398
 Еланский С.Н. 54, 262, 266, 346, 369, 398
 Елизарова С.А. 55, 306
 Ермекова Б.Д. 92
 Есян Т.А. 84
 Ефименко Т.А. 131
 Ефимова М.В. 352
 Ефимочкина Н.Р. 282

Ж

Жгун А.А. 378, 387, 389, 449
 Жебрак И.С. 189
 Железова А.Д. 116
 Желифонова В.П. 257, 441
 Желтова Е.В. 311
 Жемчужина Н.С. 55, 107, 306
 Жигачев О.А. 253
 Жираковская Е.В. 97
 Жуйкова Е.В. 57

З

Завриев С.К. 52
 Загнитко Ю.П. 443
 Загустина Н.А. 94
 Зайнитдинова Л.И. 141, 440
 Зайцев Б.Д. 436
 Зайцев Г.А. 191
 Замкова М.А. 401
 Захарова Е.А. 381
 Звягильская Р.А. 17, 21
 Звягинцев В.Б. 209, 229
 Зейналова Л.А. 464
 Зеленская М.С. 118
 Зиангирова М.Ю. 465
 Зленко Д.С. 466
 Змитрович И.В. 115, 181, 445
 Зухритдинова Н.Ю. 408

И

Иванов И.В. 143
 Иванова А.Д. 225
 Иванова А.Е. 125, 135, 227, 379, 381
 Иванова А.Н. 325
 Иванова Е.А. 116
 Иванова Е.В. 36
 Иванова Е.С. 401
 Иванушенко Ю.Ю. 219
 Иванушкина Н.Е. 363, 371
 Ивойлов А.В. 74, 75
 Игнатенко Р.В. 163
 Ильин В.К. 130
 Ильинская О.Н. 386
 Ильюшин В.А. 133
 Истомина Н.Б. 165
 Иткина Д.Л. 271

К

Казакова М.В. 173
 Казарцев И.А. 109
 Калембет И.Н. 232
 Калинина Л.Б. 186
 Калиновская Н.И. 115
 Каналбек Г.К. 328
 Кантерова А.В. 38, 47
 Кантор Г.Я. 27
 Капарулина Е.Н. 410
 Каракотов С.Д. 311
 Каримова Ф.А. 284, 309
 Карпов В.А. 379, 381
 Карпова Н.В. 378
 Катаева М.Н. 167
 Качалкин А.В. 102, 124, 273
 Кашко Н.Д. 15
 Кваско А.Ю. 466
 Кельбин В.Н. 348
 Керимова Е.Р. 464
 Кивраки Д. 346
 Кинчарова М.Н. 275, 337
 Кирцидели И.Ю. 133, 134
 Киселёва М.Г. 52
 Киселева М.И. 55, 306
 Клапко С.Ф. 399
 Климкина К.М. 387
 Кнорре Д.А. 15
 Коваленко А.В. 300
 Ковина А.Л. 31
 Кожевин П.А. 189
 Козлов И.А. 368
 Козловский А.Г. 257, 441
 Козьминов С.Г. 80
 Колганихина Г.Б. 78
 Колесникова Т.Е. 454
 Колесов В.В. 465
 Колоколова Н.Н. 330
 Коломиец Т.М. 42
 Колтунов Е.В. 104
 Комиссаров Н.С. 451
 Кондакова Г.В. 77

Кононенко Г.П. 100
 Конорева Л.А. 161
 Копина М.Б. 265, 276
 Кораблева Е.М. 16
 Кориняк С.И. 225
 Корнейкова М.В. 107
 Коробейников А.С. 331
 Костенко Н.Ю. 342
 Костина Н.В. 227
 Коткова В.М. 78
 Кочкина Г.А. 363, 371
 Краева Л.А. 134
 Крапивина Е.А. 80
 Краснобаева И.Л. 384
 Краснопольская Л.М. 278, 401, 465
 Крашенинникова Т.К. 129
 Криворотов С.Б. 91
 Кривушина А.А. 359, 368
 Круподерова Т.А. 459, 466
 Крюков А.А. 204
 Крючкова М.О. 135
 Ксенофонтова Н.А. 116, 137
 Куварина А.Е. 131, 422
 Кувичкина Т.Н. 410
 Кудрявцева О.А. 23
 Кузнецова И.Е. 436, 465
 Кузнецова М.А. 318
 Кузьмина Л.Ю. 73, 395
 Куканова С.И. 440
 Кульбанская И.Н. 218
 Кулько А.Б. 422
 Кураков А.В. 227, 409
 Курамшина З.М. 206
 Курбатов А.А. 168
 Курбонов А. 267
 Куркова Н.А. 42
 Курочкин С.А. 82
 Кутовая О.В. 116
 Кутузова И.А. 266, 369
 Кушалиева Ж.А. 80
 Кушниренко И.Ю. 298
 Кызметова Л.А. 92

Л

Лаблюк С.В. 399
 Лавлинский А.В. 453
 Ладутько Е.И. 47
 Лапина В.В. 107, 306
 Ларина Г.Е. 232
 Лахтин В.М. 412
 Лахтин М.В. 412
 Левитин М.М. 279
 Левченко М.В. 109
 Леднев Г.Р. 109
 Леднев С.А. 155
 Леонович С.И. 47
 Летвинова В.С. 7
 Липницкий А.В. 120
 Лисовская С.А. 365
 Литовка Ю.А. 139, 257, 413

Лихачева О.В. 165
Лиховидов В.Е. 39
Ломберг М. Л. 280
Лупашку Г.А. 333, 334
Лыпыгин В.Е. 188
Лысак Л.В. 188
Любавская Е.А. 387, 389

М

Мазина С.Е. 123
Мазурек Б.Г. 189
Макаренко А.А. 410
Максимова И.А. 102
Максимович С.В. 227
Мамадаминов Р. 64
Мамаев Д.В. 17, 21
Мамедов М.М. 111
Марданова А.М. 255
Маркарян Л.В. 193
Масленников А.А. 113
Маслова М.В. 326, 335
Матвиенко Е.В. 337
Матевосян Р.Э. 84
Матыс В.Ю. 419
Махсумханов А.А. 408
Мейсурова А.Ф. 170
Мелентьев А.И. 73, 423
Мелькумов Г.М. 208, 454
Мелькумова Е.А. 301, 302, 344
Минаева Л.П. 52, 282
Миндубаев А.З. 415
Минзанова С.Т. 415
Минина Н.Н. 417
Миркина Е.В. 225
Миславский С.М. 262
Митина Г.В. 127
Михайлова О.Б. 456
Михина М.С. 236
Михня Н.И. 333
Мищенко И.Г. 338
Мороз Е.Л. 85
Морозова Е.В. 348
Мухаметова Г.М. 191
Мухаммедов И.И. 284, 309
Мучник Е.Э. 153, 155, 157, 173
Мшенская Н.С. 114
Мясников А.Г. 115

Н

Нагуманов Ш.З. 87
Нанагюлян С.Г. 84, 193
Насметова С.М. 427
Негря С.Д. 389
Немашкалов В.А. 419
Нефедьева Е.Э. 314
Никитин Д.А. 107, 116, 137
Никитина В.Е. 438
Никитина З.К. 402
Новиков А.А. 368

Новикова И.И. 384
Новожилова Т.Ю. 94
Нотов А.А. 170
Нураева Г.К. 378, 389
Нусупов А.А. 184

О

Огарков Б.Н. 420
Огаркова Г.Р. 420
Озерская С.М. 363, 371
Омура Й. 161
Орина А.С. 13
Осмоловский А.А. 94
Охлопкова О.В. 97

П

Павлов А.К. 135
Павлов И.Н. 139, 257, 413
Павлова М.Д. 286
Павлова Н.А. 287
Панин А.Л. 134
Панкратов А.Н. 436
Пантелеев С.В. 229
Пасечник Т.Д. 285
Пауков А.Г. 161
Пахолкова Е.В. 42
Переведенцева Л.Г. 445
Перельгин В.В. 445
Петренко С.М. 413
Петрова Н.Г. 288
Погосян А.В. 217
Поддубко С.В. 130
Подзорова М.В. 376, 382
Поклонский Д.Л. 367
Половец Н.В. 120
Полякова Н.Н. 232
Полянина А.С. 282
Попкова А.В. 123
Попов А.А. 382
Попыванов Д.В. 199
Потапов М.П. 378, 387
Потапова Т.В. 19
Приходько Е.С. 340
Прудникова Е.В. 10, 125
Пулатова О.М. 408
Пунгин А.В. 170
Пучкова Л.И. 97
Пчелкин А.В. 45, 175

Р

Разгуляева Н.В. 342
Разин А.Н. 458
Расулова Г.А. 246
Рахимова Е.В. 92
Решетиллов А.Н. 410
Рогов, А.Г. 21
Рогожин А.Н. 318
Рогожин Е.А. 131, 422
Родин О.Н. 367
Родионов А.В. 204

Рожкова А.М. 419
Рудая С.П. 323
Рузиева Д.М. 284, 309
Руоколайнен А.В. 230
Рябова А.С. 73

С

Савенко А.В. 38, 47, 459
Сагадеев Е.В. 386
Садыкова В.С. 131, 409, 422
Сазанова К.В. 118
Сайнчук А.Д. 425
Сальникова Н.Н. 42
Самохвалова Л.В. 52
Самусенок Л.В. 420
Санджиева Д.А. 369, 398
Саркина И.С. 195
Сарычева Л.А. 197
Саткен Х.С. 184
Сафарова И.В. 408
Сафатов А.С. 97
Сафина В.Р. 395, 423
Сафонов М.А. 89
Семенова Т.А. 379, 381
Сеник С.В. 23
Серая Л.Г. 232
Серба Е.М. 428
Сизов Л.Р. 188
Синицын А.П. 419
Синицына Ю.В. 183
Синчурина Е.В. 129
Сколотнева Е.С. 348
Скрипка О.В. 265
Скугорева С.Г. 27
Сметанина Т.И. 318
Смирнов А.А. 253
Смирнов А.В. 465
Смирнов А.Н. 236, 237, 340
Смирнов В.Ф. 379, 381
Смирнова О.Г. 236, 237
Смирнова О.Н. 379, 381
Смук В.В. 349
Созина И.Д. 260
Соколова Е.Н. 428
Сокорнова С.В. 287
Солдатенко Н.А. 300
Соловьева В.К. 225
Соловьянова Н.А. 97
Солодянкин П.А. 151
Соляникова В.В. 260
Сонина А.В. 168
Сошина А.С. 107
Стахеев А.А. 52
Стогниенко Е.С. 301, 302
Стогниенко О.И. 293, 301, 302
Стороженко В.Г. 121
Строганов Ю.Ф. 386
Стручкова И.В. 16, 114
Стыценко Т.С. 378
Суандзара Б.Р. 123

Сулейманова А.Д. 271
 Сулейманова Г.Ч. 464
 Сурина Т.А. 276
 Суркова Р.С. 120
 Сулова Е.Г. 153
 Сыпабеккызы Г. 92
 Сытников Д.М. 201

Т

Тайсумов М.А. 80
 Таранчева О.В. 350, 354
 Тарасова В.Н. 163, 176
 Ташбаев Ш.А. 408
 Ташпулатов Ж.Ж. 141
 Тепеева А.Н. 124
 Терехова В.А. 10, 125
 Терёшина В.М. 10, 141
 Терещенкова В.Ф. 5
 Тертышная Ю.В. 376, 382
 Тетянников Н.В. 330
 Тиморшина С.Н. 94
 Тимофеева В.А. 34, 238
 Титова Ю.А. 384, 433, 462
 Тихонов В.В. 409
 Тихонова К.О. 265
 Тишков В.И. 449
 Ткачёва М.Н. 29, 443
 Толпышева Т.Ю. 179
 Томилова О.Г. 352
 Тригос А. 461
 Тригубович А.М. 7, 143, 361
 Троян Е.В. 387, 389
 Тхакахова А.К. 116, 137
 Тюрина Ж.П. 399

У

Уварова Д.А. 265, 276
 Умаров Б.Р. 202
 Умарова А.Б. 102
 Усов А.И. 401

Ф

Фалеев Д.Г. 184, 328
 Фалеев Е.Г. 184
 Федоров Д.Е. 387
 Федосеева Е.В. 10, 125
 Филиппова И.А. 458
 Филиппова И.Ю. 5
 Филиппова Н.В. 71
 Франк-Каменецкая О.В. 118
 Фролов И.В. 161
 Фролова Г.М. 287
 Фурсова Н.А. 428

Х

Хайдарова Г.Г. 365
 Халдеева Е.В. 365
 Хамрохужаев А. 64
 Харитонов С.Л. 425
 Харлова А.А. 406

Хачева С.И. 222
 Хлопунова Л.Б. 32, 269
 Холмурадова Н.К. 408
 Храмов Е.Н. 367
 Хромогин П.В. 413

Ц

Цеханович С.В. 238
 Цивилева О.М. 436

Ч

Чайка А.В. 443
 Чепцов В.С. 135
 Червяцова О.Я. 73
 Черепенина Д.А. 157
 Чернакова Д.А. 287
 Чесноков С.В. 161
 Чикин Ю.А. 406
 Чилочи А.А. 399
 Чоглокова А.А. 127
 Чубарь Т.А. 449
 Чудинова Е.М. 266
 Чудинова Е.М. 346, 398

Ш

Шабанова Н.Ю. 240
 Шабашова Т.Г. 50, 209
 Шайдаюк Е.Л. 295, 298
 Шамин А.А. 293
 Шарипова З.О. 246
 Шаров Т.М. 120
 Шахазизян И.В. 84
 Шахмуров Н.А. 427
 Шахова Н.В. 23, 290
 Шевелева С.А. 282
 Шевченко О.В. 389
 Шейко Е.А. 25, 201
 Шеломов М.Д. 449
 Шергина О.А. 120
 Ширнина Л.В. 344
 Широких А.А. 199
 Ширшенко С.Ю. 459
 Ширяев А.Г. 90
 Шитов М.В. 387, 389
 Шихабудинов А.М. 436
 Шишкина А.А. 234
 Шишкина А.А. 234
 Шишконакова Е.А. 179
 Шишова М.Ф. 204
 Шкункова Т.А. 346
 Шнырева А.В. 461
 Шпанев А.М. 347
 Шрейдер Е.Р. 298
 Шумкова О.А. 91

Щ

Щеголькова Н.М. 425

Э

Элоян И.М. 217

Элоян И.М. 84
 Элпидина Е.Н. 5
 Эльдаров М. 449
 Эназаров Р.Х. 413
 Эспиноза В. 461

Ю

Юрков А.П. 204
 Юскевич В.В. 39
 Юсупов У.К. 246
 Юсупова Р.А. 206
 Юшкевич Т.В. 458

Я

Ядерец В.В. 378
 Якименко О.С. 125
 Яковлев Г.П. 445
 Яковлева Г.Ю. 386
 Яковченко Л.С. 159, 161, 162
 Януцевич Е.А. 10, 141
 Ярина М.С. 401
 Ярмеева М.М. 54, 262
 Ярук А.В. 229
 Ясько М.В. 389
 Яхник Я.В. 354

А

Avilleira G.P. 359

В

Batista M.G. 359

С

Chamero-Lago D. 359

U

Uzagawa Z. 359

Для заметок