

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 55, номер 3, 2021

---

---

## БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

- Сведения о дискомицетах Шантарских островов (Хабаровский край)  
*А. В. Богачева* 157
- Оппортунистические грибы прибрежных территорий  
Кольского залива Баренцева моря  
*Е. А. Исакова, М. В. Корнейкова* 165
- Разнообразие микроскопических грибов на древесине  
в береговой зоне Гренландского моря (архипелаг Шпицберген)  
*И. Ю. Курцидели, Е. Г. Лукина, В. А. Ильюшин, Д. Ю. Власов* 178
- Влияние технологии no-till на численность и таксономический  
состав микроскопических грибов в южных агрочерноземах  
*Д. А. Никитин, М. В. Семенов, А. Д. Железова, О. В. Кутювая* 189
- 

## ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

- Идентификация и токсикологическая характеристика  
штаммов *Alternaria japonica*  
*Д. Р. Салимова, Д. С. Кочура, С. В. Сокорнова,  
А. С. Орина, Ф. Б. Ганнибал, А. О. Берестецкий* 203
- 

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Микологическое наследие Иоганна Буксбаума. 2. Грибы,  
описанные во второй “Центурии” (1728)  
*И. В. Змитрович, А. К. Сытин* 219
- Тромболитический потенциал внеклеточной протеиназы  
микробицета *Aspergillus terreus* 2  
*А. А. Осмоловский, Е. С. Звонарева, В. Г. Крейер,  
Н. А. Баранова, И. Б. Котова, Н. С. Егоров* 225
- 
-

# Contents

---

---

Vol. 55, No. 3, 2021

---

---

## BIODIVERSITY, TAXONOMY, ECOLOGY

- Data on discomycetes of the Shantar Islands (Khabarovsk Territory)  
*A. V. Bogacheva* 157
- Opportunistic fungi of coastal territories of the Kola Bay  
of the Barents Sea  
*E. A. Isakova, M. V. Korneykova* 165
- Diversity of microfungi on driftwood in the coastal zone  
of the Greenland Sea (Svalbard Archipelago)  
*I. Yu. Kirtsideli, E. G. Lukina, V. A. Iliushin, D. Yu. Vlasov* 178
- Influence of no-till technology on number and taxonomic  
composition of microscopic fungi in southern agrochernozemes  
*D. A. Nikitin, M. V. Semenov, A. D. Zhelezova, O. V. Kutovaya* 189
- 

## PHYTOPATHOGENIC FUNGI

- Identification and toxigenic properties of *Alternaria japonica* strains  
*D. R. Salimova, D. S. Kochura, S. V. Sokornova,*  
*A. S. Orina, Ph. B. Gannibal, A. O. Berestetskiy* 203
- 

## SHORT COMMUNICATIONS

- Mycological heritage of Johann Buxbaum. 2. Fungi described  
in the second "Centuria" issue (1728)  
*I. V. Zmitrovich, A. K. Sytin* 219
- Thrombolytic potential of extracellular proteinase of micromycete  
*Aspergillus terreus* 2  
*A. A. Osmolovskiy, E. S. Zvonareva, V. G. Kreyer,*  
*N. A. Baranova, I. B. Kotova, N. S. Egorov* 225
- 
-

БИОРАЗНООБРАЗИЕ,  
СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 528.282 (571.62)

СВЕДЕНИЯ О ДИСКОМИЦЕТАХ ШАНТАРСКИХ ОСТРОВОВ  
(ХАБАРОВСКИЙ КРАЙ)

© 2021 г. А. В. Богачева<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, 690022 Владивосток, Россия

\*e-mail: bogacheva@biosoil.ru

Поступила в редакцию 17.04.2020 г.

После доработки 15.12.2020 г.

Принята к публикации 23.12.2020 г.

В рамках планомерного изучения микобиоты Дальнего Востока России были проведены микологические изыскания на территории Шантарских о-вов, где с 2013 г. организован национальный парк федерального значения с одноименным названием. В августе 2019 г. состоялась первая микологическая экспедиция с целью изучения видового разнообразия макромицетов островных растительных сообществ. Часть собранного материала, представляющая группу дискомицетов, обработана. Получены сведения о 48 видах из 29 родов и 17 семейств, относящихся к 7 порядкам из 6 классов, встречающихся на исследованной территории. Среди них есть виды, впервые отмеченные в России – *Ascobolus epimyces*, *A. lignatilis*, *Bryoglossum rehmi* и *Geoglossum vleugelianum*.

**Ключевые слова:** аскомицеты, Дальний Восток России, ельники, кедровый стланик, лиственничники, микобиота, национальный парк, редкие виды, Шантарские острова

**DOI:** 10.31857/S002636482103003X

## ВВЕДЕНИЕ

Система особо охраняемых территорий (ООПТ) в дальневосточном регионе в последнее время активно расширяется. Вновь организованные природоохранные учреждения заинтересованы и дают возможность изучать биологическое разнообразие в местах, ранее недоступных для исследователей. Так в 2013 г. в западной части Охотского моря у входа в Тугурский залив между 54 и 55° с.ш. и 136 и 139° в.д. был создан Национальный парк “Шантарские острова”, включающий 15 больших и малых о-вов с прилежащими акваториями. Одной из основных его задач является сохранение природных комплексов побережья Охотского моря. Призывы к этому звучали еще более полутора сотен лет назад (Trautvetter, Meyer, 1856; Middendorf, 1867). В результате пожаров, вызванных хозяйственной деятельностью с 1713 и вплоть до 1930 гг., растительность о-вов претерпела значительные изменения. Еловые леса на небольших островах архипелага полностью не восстановились. На более крупных о-вах ныне они занимают менее половины лесопокрытой площади (Shlotgauer, Kryukova, 2012). Широкое распространение получили лиственничники и заросли кедрового стланика. Растительность и ее флористический состав были детально исследованы, начиная с 1928 г. (Shishkin, 1928; Shantar Islands spruce forests, 1984; Shlotgauer, Kryukova, 2012; Voronov et al., 2016). На островах отмечено 590 видов сосудистых растений, состав-

ляющих основу растительности. Но, если данные по составу флоры наличествуют, то о видовом разнообразии грибов их нет. Целью нашей работы было восполнить этот пробел, изучив состав сумчатых грибов Национального парка.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В течение короткого шантарского лета (июль–август), когда прибрежные льды отходят от архипелага и сотрудники охраны и исследователи получают возможность высадиться на сушу, нами были обследованы лесные, кустарниковые, луговые, скальные, болотные формации и галофитный растительный комплекс морского побережья о-вов Большой Шантар и Прокофьева. Выполняя поставленную задачу, экспедиционный отряд в составе дальневосточных микологов – А.В. Богачевой (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток), Е.В. Ерофеевой (ИКАРП ДВО РАН, Биробиджан), Н.В. Кочуновой (АФ БСИ ДВО РАН, Благовещенск) и четверых инспекторов лесной охраны ФГБУ “Заповедное Приамурье” работал с 4 августа по 3 сентября 2019 г. Маршрутами были охвачены низменные (среднетаежные и южнотаежные дальневосточные равнинные), возвышенные (среднетаежные и южнотаежные дальневосточные равнинные) и среднегорные ландшафты (пояс темнохвойной тайги и редколесий с фрагментами каменноберезовых лесов и стлаников).

Было проведено обследование основных растительных сообществ парка. Лесной (горнотаежный) пояс занимают еловые и лиственничные, каменноберезово-еловые и елово-лиственничные леса. На высоте более 300–400 м они замещаются зарослями кедрового стланика с одиночно стоящими елями, лиственницами и каменными березами, которые наиболее часто образуют подгольцовый пояс. На наветренных склонах и мысах, вдающихся в море, лесная растительность представлена зарослями кедрового стланика, ольховников и ерников (Shlotgauer, Kryukova, 2012). Горно-тундровый (гольцовый) пояс, расположенный на привершинных участках или береговых утесах, сформирован осоками, злаками, мелкими кустарниками и кустарничками.

Объем материала, представляющего группу сумчатых грибов, составил около 200 образцов. Его камеральная обработка осуществлялась традиционным методом (Hawksworth, 1974; Varykina et al., 2000) на базе лаборатории Ботаники ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН. Микроскопические исследования проводились с применением микроскопов Nikon Eclipse E200 и МБС-10. Каталогные описания идентифицированных образцов зарегистрированы в базе данных ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН. Грибы переданы для помещения в фонд Дальневосточного регионального гербария (VLA). Распространение по дальневосточному региону дано согласно фондовым коллекциям VLA, а также ряду опубликованных ранее работ (Raitviir, 1991; Vasilyeva, 2001; Prokhorov, 2004).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенной идентификации собранных образцов нам удалось выявить 48 видов. Микобиота дальневосточных ООПТ в последнее время интенсивно изучается (Egofeeva, Bulakh, 2015; Kirichuk, Pivkin, 2015; Rebriev, Bulakh, 2015; Egofeeva, Bukharova, 2018; Bogacheva, 2019; Bogacheva et al., 2015, 2020; Bukharova et al., 2019). Попутно делаются находки, дополняющие сведения о видовом разнообразии более крупных по масштабу административных территорий – Россия, Дальневосточный округ, Хабаровский и Приморский края и т.д. Так, нами обнаружено 14 новых для микобиоты Хабаровского края видов (\*), 5 – новых для округа (\*\*), 4 – для России (\*\*\*). Ниже приведен список таксонов, отмеченных на территории Национального парка “Шантарские острова”. В аннотациях даны сведения о субстратах, экотопах, дате и месте сбора, каталожный номер во VLA и используются следующие сокращения: распр. (распространение), о. (остров), окр. (окрестности), обл. (область), кр. (край), Б. Шантар (Большой Шантар), Хабар. (Хабаровский край), ЕАО (Еврейский автономный округ), Прим. (Приморский край), Камч. (Камчатский край),

Чукотский АО (Чукотский автономный округ). Таксоны приведены согласно номенклатурной базе данных Index Fungorum (2020).

### *Ascomycota*

#### *Geoglossomycetes*

##### *Geoglossales*

##### *Geoglossaceae*

\*\*\**Geoglossum vleugelianum* Nannf. – на гниющей древесине березы каменной, в подстилке, ельник зеленомошный с березой каменной, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4288. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар.

#### *Dothideomycetes*

##### *Mytilinidales*

##### *Mytiliniaceae*

*Zogium mayorii* (H. Zogg) Lar.N. Vassiljeva – на стволе молодой ели, лиственничная марь, окр. метеостанции, бухта Якшина, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4258. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар.

#### *Orbiliomycetes*

##### *Orbiliales*

##### *Orbiliaceae*

*Hyalorbilia inflatula* (P. Karst.) Baral et G. Marson – на коровых чешуйках березы каменной, ельник, бухта Панкова, 14.08.19, VLA D-4314; на валежной замшелой древесине, ельник с березой каменной и ольхой, г. Боквицова, о. Б. Шантар, 22.08.19, VLA D-4322. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар., ЕАО, Прим., Камч., Сахалинская обл.

*Orbilia epipora* (Nyl.) P. Karst. – на гниющей древесине березы каменной, ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4316. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар., Прим.

\**O. xanthostigma* (Fr.) Fr. – на гниющей древесине ели, ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4256; VLA D-4315. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар., Прим.

#### *Pezizomycetes*

##### *Pezizales*

##### *Ascobolaceae*

*Ascobolus castaneus* Teng – на помете бурого медведя, ельник, восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19, VLA D-4276. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар., Прим.

\*\*\**Ascobolus epimyces* (Cooke) Seaver – на мертвой древесине лиственницы, лиственничник разнотравный, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4254. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар.

\*\*\**A. lignatilis* Alb. et Schwein. – на мертвой древесине лиственницы, лиственничник разнотравный, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4318. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабар.



*Pezizaceae*

*Adelphella babingtonii* (Berk. et Broome) Pfister, Matoc̄es et I. Kuřan – на валежной древесине ольхи, берег р. Якшина, бухта Якшина, окр. метеостанции, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4263. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

\**Iodophanus testaceus* (Moug.) Korf – на помете бурого медведя, ельник, восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19; ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 27.08.19, VLA D-4307. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*Peziza fimeti* (Fuckel) E.C. Hansen – на помете бурого медведя, ельник, бухта Панкова, 12.08.19, VLA D-4300; восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19, VLA D-4299. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*P. natrophila* A.Z.M. Khan – на моховой подушке у ствола ели, ельник зеленомошный, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4296. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров.

*Pyronemataceae*

*Scutellinia scutellata* (L.) Lambotte – на валежной древесине, берег р. Якшина, бухта Якшина, окр. метеостанции, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4245. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., ЕАО, Амурская обл., Прим., Магаданская обл., Камч., Сахалинская обл.

*Spooneromyces laeticolor* (P. Karst.) T. Schumacher et J. Moravcs – на моховой подушке, ельник зеленомошный, восточный берег оз. Большое, 17.08.19, VLA D-4305; ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 27.08.19, VLA D-4312. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров.

*Pseudombrophila cervaria* (W. Phillips) Brumm. – на помете бурого медведя, ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 27.08.19, VLA D-4311. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров.

*Sarcosomataceae*

\**Pseudoplectania nigrella* (Pers.) Fuckel – на моховой подушке на стволе ели, ельник зеленомошный с березой каменной, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4282. Распр. на Дальнем Востоке России: Сахалинская обл.

*Leotiomycetes**Helotiales**Bryoglossaceae*

\*\*\**Bryoglossum rehmi* (Bres.) Ohehoja – на сфагновой подушке, ельник, восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19, VLA D-4304. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров.

*Chlorociboriaceae*

*Chlorociboria aeruginascens* (Nyl.) Kanouse ex C.S. Ramamurthi, Korf et L.R. Vatra – на отмерших ветвях рябины, в подстилке, стланиковые заросли с березой, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4247. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*Helotiaceae*

*Bisporella citrina* (Batsch) Korf et S.E. Carp. – на древесине и коре валежного ствола березы, ельник с березой каменной, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4257, VLA D-4268; на древесине ели, ельник, восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19, VLA D-4258; VLA D-4313. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., ЕАО, Амурская обл., Прим., Магаданская обл., Камч., Сахалинская обл.

*Hymenoscyphus herbarum* (Pers.) Dennis – на прошлогодних стеблях чемерицы, разнотравный прибрежный луг, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4317. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., ЕАО, Амурская обл., Прим., Магаданская обл., Камч., Сахалинская обл.

\**H. humuli* (Lasch) Dennis – на отмерших частях листа живого растения кислицы, прибрежный разнотравный луг, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4310. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим.

*H. scutula* (Pers.) W. Phillips – на прошлогодних стеблях сложноцветных, марь, прибрежная полоса, окр. оз. Большое, о. Б. Шантар, 26.08.19, VLA D-4297. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., ЕАО, Прим., Магаданская обл., Камч., Сахалинская обл.

*Hemiphacidiaceae*

*Encoelia furfuracea* (Roth) P. Karst. – на сухих веточках дюшекии, прибрежные заросли кедрового стланика и дюшекии, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4251. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Магаданская обл.

\**Heyderia abietis* (Fr.) Link – на опавшей хвое, ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 27.08.19, VLA D-4246. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

\*\**Heyderia cucullata* (Batsch) Vasyuk et Van Vooren – на моховой подушке, ельник, восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19, VLA D-4260, VLA D-4270. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров.

*Hyaloscyphaceae*

*Clavidisculum caricis* Raitv. – на прошлогодних листьях осоки, прибрежный скальный разнотравный склон, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4275. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Чукотский АО.

*Lachnaceae*

\**Lachnellula kamtschatica* Raitv. – на сухих веточках лиственницы, ельник зеленомошный разнотравный, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 20.08.19, VLA D-4271. Распр. на Дальнем Востоке России: Республика Бурятия (Кабанский район), Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*L. minuscula* Raitv. – на стволе молодой ели, ельник зеленомошный, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4295. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*L. occidentalis* (G.G. Hahn et Ayers) Dharne – на сухих веточках лиственницы, лиственничник лишайниковый, бухта Якшина, окр. метеостанции, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4303; лиственничник разнотравный, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4255. Распр. на Дальнем Востоке России: Республика Саха (Нерюнгринский район), Хабаров., Прим., Магаданская обл., Камч., Сахалинская обл.

*L. resinaria* (Cooke et W. Phillips) Rehm — на сухих веточках кедрового стланика, прибрежные заросли стланика, окр. пункта охраны парка, 14.08.19, VLA D-4264; восточный берег оз. Большое, 17.08.19, VLA D-4273; на стволе молодой ели, листовенничная марь, окр. метеостанции, бухта Якшина, 24.08.19, VLA D-4298; на веточках листовенницы, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4309. Распр. на Дальнем Востоке России: Республика Бурятия (Баргузинский район), Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*L. suecica* (de Vary ex Fuckel) Nannf. — на сухих веточках листовенницы, листовенничник мелкокустарничковый, бухта Якшина, окр. метеостанции, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4272. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Магаданская обл., Чукотский АО (Билибинский район), Камч., Сахалинская обл.

*Lachnum clavigerum* (Svrček) Raitv. — на прошлогодних стеблях травянистых растений, прибрежные скалы, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4253. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Камч., Сахалинская обл.

\**L. pseudocannabinum* (Raitv.) Raitv. — на прошлогодних стеблях зонтичных, разнотравный прибрежный луг, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4323. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Камч., Сахалинская обл.

*L. pudicelloides* (Raitv.) Raitv. — на прошлогодних стеблях злаковых (мятлик), прибрежные скалы, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4249. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Камч., Сахалинская обл.

*L. roseum* (Rehm) Rehm — на прошлогодних стеблях злаковых, прибрежная марь, окр. оз. Большое, о. Б. Шантар, 26.08.19, VLA D-4301. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Камч., Сахалинская обл.

*Perrotia gallica* (P. Karst. et Har.) Spooner — на сухих веточках кедрового стланика, прибрежные заросли стланика, окр. г. Боковикова, о. Б. Шантар, 22.08.19, VLA D-4274. Распр. на Дальнем Востоке России: Республика Бурятия (Баргузинский район), Хабаров., Прим.

#### Mollisiaceae

*Mollisia caesia* (Fuckel) Sacc. — на сухих ветвях ольхи, прибрежные заросли стланика и низкорослой кустарниковой ольхи, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4281. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*M. cinerea* (Batsch) P. Karst. — на гниющей древесине березы каменной, ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4316. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Камч., Сахалинская обл.

*M. ligni* (Desm.) P. Karst. — на гниющей древесине березы каменной, ельник, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4320. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*M. polygoni* (Lasch ex Rehm) Gillet — на прошлогодних стеблях цветковых растений, листовенничник разнотравный, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4319. Распр. на Дальнем Востоке России: Прим., Сахалинская обл.

*Pyrenopeziza benesuada* (Tul.) Gremmen — на гниющей древесине, прибрежные выбросы бревен, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4252. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., ЕАО, Прим., Магаданская обл., Чукотский АО, Камч., Сахалинская обл.

*P. gentianae-asclepiadeae* Nannf. — на прошлогодних стеблях злаковых (мятлик), прибрежные скалы, бухта Панкова, о. Б. Шантар, 12.08.19, VLA D-4249. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров.

\**P. revincta* (P. Karst.) Gremmen — на прошлогодних стеблях хвоща, листовенничник разнотравный, о. Прокофьева, 11.08.19, VLA D-4308. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим.

#### Tympanidaceae

*Tympanis truncatula* (Pers.) Rehm — на коре листовенницы у выхода смоляных каналов, листовенничник разнотравный, о. Прокофьева, 14.08.19, VLA D-4250; листовенничник мелкокустарничковый, бухта Якшина, окр. метеостанции, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4269. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

#### Rhytismatales

##### Rhytismataceae

*Cudonia circinans* (Pers.) Fr. — на лесной сильно переувлажненной подстилке, ельник зеленомошный с березой каменной, бухта Панкова, 12.08.19, VLA D-4321; ельник зеленомошный, 14.08.19, VLA D-4280; ельник зеленомошный, восточный берег оз. Большое, 17.08.19, VLA D-4259; ельник зеленомошный, окр. оз. Большое, 26.08.19, VLA D-4261; на сильно разложившейся древесине, ельник с березой каменной и ольхой, г. Боковикова, о. Б. Шантар, 22.08.19, VLA D-4262. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Сахалинская обл.

*Discocainia treleasei* (Sacc.) J. Reid et A. Funk — на стволах елей, ельник зеленомошный, о. Б. Шантар, 14.08.19, VLA D-4248. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Сахалинская обл.

\**Rhytisma salicinum* (Pers.) Fr. — на листьях ивы, прибрежная марь, восточный берег оз. Большое, о. Б. Шантар, 17.08.19, VLA D-4265. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Прим., Камч., Сахалинская обл.

#### Neolectomycetes

##### Neolectales

##### Neolectaceae

*Neolecta vitellina* (Bres.) Korf et J.K. Rogers — на опавшей хвое листовенницы, листовенничник лишайниковый, бухта Якшина, окр. метеостанции, о. Б. Шантар, 24.08.19, VLA D-4302. Распр. на Дальнем Востоке России: Хабаров., Примор. кр., Сахалинская обл.

Приведенный выше список видов, несомненно, далеко не полон и нерепрезентативен для проведения аналитических работ. Он включает только те виды, плодоношение которых прошло в середине вегетационного периода 2019 г. Учитывая это обстоятельство, тем не менее, можно, основываясь на сведениях базы данных видовой разнообразия и распространения грибов дальневосточного региона VLA, отметить наличие сходных черт исследуемой биоты с таковыми Сахалина, материковой части севера Хабаровского и Приморского краев, в меньшей степени — Камчатки. Такое положение дел объясняется не только близким со-

седством территорий, но и материковым происхождением самих Шантар. По мнению Г.С. Ганешина (Ganeshin, 1956), горные хребты островов являются продолжением побережья материка не только по строению, но и по составу пород. Острова начинали свое самостоятельное существование в послеледниковое время, что подтверждается отсутствием островного эндемизма в растительном мире (Nechaev, 1955; Shlotgauer, Kryukova, 2005). В исследуемой микобиоте были отмечены как фоновые виды хвойных лесов северной части дальневосточного региона — *Bisporella citrina*, *Chlorociboria aeruginascens*, *Cudonia circinans*, *Hyalorbilia inflatula*, *Hymenoscyphus herbarum*, *H. scutula*, *Lachnellula occidentalis*, *Lachnum clavigerum*, *Mollisia cinerea*, *M. ligni*, *Orbilia epipora*, *Peziza fimeti*, *Pyrenopeziza benesuada*, *Rhytisma salicinum* и *Scutellinia scutellata*, так и сравнительно редко встречающиеся — *Clavdisculum caricis*, *Heyderia abietis*, *Mollisia polygoni*, *Neolecta vitellina*, *Orbilia xanthostigma*, *Pseudombrophila cervaria*, *Pyrenopeziza gentianae-asclepiadeae*, *Zoggium mayorii*. Первая группа в большинстве своем не имеет массового распространения на о-вах, а вторая попала в сборы не единожды. На границе елово-лиственничных лесов и заболоченных участков лиственничных и кустарниковых марей нами были собраны довольно редкие грибы, имеющие в регионе единичные точки сбора. Среди них виды *Heyderia abietis*, отмеченный ранее только в Приморском крае и Сахалинской обл., и *Pseudoplectania nigrella* (Сахалинская обл.). Удалось найти реликтовый вид *Neolecta vitellina*, встречающийся в России на Дальнем Востоке в сохранившихся участках первичных темнохвойных лесов (Ботчинский и Уссурийский заповедники, о. Сахалин).

Специфика островных сообществ заключается в сосуществовании в одном пространственном контуре различных по происхождению и экологии таксонов, где они участвуют в сложных растительных ценозах (Vogacheva, 2000, 2004; Raitviir, Vogacheva, 2006). Выявленная группа копротрофных грибов отражает пищевые предпочтения крупных млекопитающих в весенне-летний период. С заходом нерестовой рыбы в водотоки о. Большой Шантар (с 20 августа) появление грибов на экскрементах медведей резко снизилось. Среди обследованных формаций наибольшее видовое разнообразие сумчатых грибов традиционно отмечалось в елово-моховых лесах с достаточным количеством валежа, где влажность и температурные показатели максимальные (Shantar Islands., 1984). На скальных и болотных формациях были собраны представители гербофильных грибов из семейства *Lachnaceae*, широко распространенных в регионе (*Lachnum clavigerum*, *L. pseudocannabinum*, *L. pudicelloides* и *L. roseum*). В галофитном растительном комплексе морского побережья сумчатые грибы встречались крайне

редко. Пожалуй, единственная находка — это гриб *Pyrenopeziza benesuada* на береговых выбросах.

На о. Большой Шантар еловые леса распространены от уреза воды до 300–400 м над ур. м. и занимают половину лесопокрытой площади (Shantar Islands., 1984; Shlotgauer, Kryukova, 2005, 2012). В ельниках зеленомошных нами было отмечено наибольшее видовое разнообразие макромицетов. По предварительным результатам, на различных растительных субстратах и почве здесь обитает 15 видов сумчатых грибов. Среди них такие широко распространенные бореальные виды как *Orbilia xanthostigma*, развивающийся на древесине ели, и *Spooneromyces laeticolor* — на моховой подушке под пологом леса. В елово-лиственничных лесах было отмечено значительное количество микоризообразующих видов. Из сумчатых грибов это *Peziza natrophila*.

Лиственничные леса произрастают на всех островах архипелага, встречаются как на горных склонах, так и в пределах долин. В разнотравном подлеске нами отмечены 7 гербофильных видов сумчатых грибов, среди которых широко распространенные в умеренных широтах виды *Hymenoscyphus herbarum*, *H. scutula* и дальневосточный эндем *Lachnum pseudocannabinum*. Надо заметить, что обычного для материковых сообществ массового плодотворения этих видов на островах не наблюдалось.

Лиственничники, располагающиеся по горным склонам, заселены грибами — консортами этой древесной породы. На обследованных островах найден *Tympanis truncatula*. Он часто встречается у выхода смоляных каналов на стволах живых лиственниц, широко распространен в северной части дальневосточного региона. Заметного вреда растению не причиняет, как и два других вида, развивающихся на нижних отмерших веточках лиственниц — *Lachnellula suecica* и *L. occidentalis*. Перечисленные грибы, скорее всего, относятся к группе оппортунистических патогенов — на здоровых растениях питаются сапротрофно, на ослабленных проявляют себя в качестве возбудителей болезней елей нами были обнаружены *Lachnellula minuscula* и *Zoggium mayorii*, встречающиеся только в северной части дальневосточного региона.

На обследованных о-вах каменная береза (*Betula lanata*) и ольховник кустарниковый (*Duschekia fruticosa*) не образуют самостоятельных насаждений, формируя смешанные древостои с елью и лиственницей. На береговых склонах хребтов весь этот набор растений преобразуется в криволесье, в распадах сопровождаемое высокотравьем (Shlotgauer, Kryukova, 2005, 2012). Присутствие лиственных древесных пород привносит в исследуемую микобиоту свой набор консортных им видов. На березе каменной часто регистрируется *Bispo-*

*rella citrina*, также широко встречающийся в материковой части хвойно-широколиственных лесов Дальнего Востока. Не всегда массовые виды грибов в лесах региона также часто встречаются в аналогичных лесных сообществах национального парка. Так, виды *Hyalorbilia inflatula* и *Mollisia cinerea*, являясь фоновыми в березняках на материке, на о-вах были собраны единично, а такой космополитный вид, как *Chlorociboria aeruginascens* даже при специальном поиске был обнаружен лишь единожды на валежных ветвях рябины.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Начальные результаты исследования биоты дискомицетов показали сравнительно невысокое видовое разнообразие. Также к ее особенностям можно отнести и слабое участие в растительных сообществах эндемичных дальневосточных видов грибов. Ряд редко встречающихся в материковых сообществах дальневосточного региона видов, на территории национального парка можно отнести к фоновым, в то время как широко распространенные — на Шантарских о-вах регистрируются единично, либо не были обнаружены вовсе. Возможно, это связано с климатическими характеристиками данного вегетационного периода. Дальнейшие исследования на территории парка позволят дать более точную характеристику видового разнообразия и выявить факторы, определяющие специфику рассматриваемой микобиоты. В структуре микобиоты исследованных островов нами отмечено 48 видов сумчатых грибов из 29 родов и 17 семейств, относящихся к 7 порядкам из 6 классов. Ведущими семействами среди них являются *Lachnaceae* (10 видов) и *Mollisiaceae* (7 видов), которые традиционно являются таковыми в микобиоте региона. Наиболее представлены в видовом плане 2 рода — *Mollisia* (4 вида) и *Lachnellula* (5 видов). Тем не менее, обозначенная уже на этом этапе исследования экологическая структура микобиоты показывает участие аскомицетов в процессах утилизации растительных остатков и в почвообразовании.

Автор выражает глубокую признательность администрации и сотрудникам ФГБУ “Заповедное Приамурье” за предоставленную возможность посещения труднодоступных районов, за организацию и проведение полевых исследований.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G. et al.* Fundamental microtechnique studies in botany. The reference manual. Moscow, 2000 (in Russ.).
- Bogacheva A.V.* Discomycetes from the Far Eastern Federal Marine reserve islands. In: Theses of the II international scientific conference “Monsoon Climat Plants”. Dalnauka, Vladivostok, 2000. P. 23–24 (in Russ.).
- Bogacheva A.V.* The structure of ecological groups of discomycetes in Sakhalin Island. In: Flora and Fauna of Sakhalin Island (Materials of International Sakhalin Project). Part 1. Dalnauka, Vladivostok, 2004. P. 107–114 (in Russ.).
- Bogacheva A.V.* Additional data on the discomycetes mycobiota of the Ussuriysky Nature Reserve. Biota i sreda zapovednih territorii. 2019. V. 3. P. 65–70 (in Russ.).
- Bogacheva A.V., Bulakh E.M., Bukharova N.V. et al.* Fungi. In: Vascular plants, algae and fungi of the state natural “Botchinsky” reserve. Dalnauka, Vladivostok, 2015. P. 90–116 (in Russ.).
- Bogacheva A.V., Bulakh E.M., Bukharova N.V. et al.* Fungi. In: Biota and soils of the “Udege Legend” national park. Dalnauka, Vladivostok, 2020. P. 169–209 (in Russ.).
- Bukharova N.V., Prozorova L.A., Ternovenko V.A.* Rare and new species from the Far Eastern Marine Reserve. 5. Aphylloroid fungi (*Basidiomycota*) of the Popov Island. Biota i sreda zapovednykh territoriy. 2019. V. 4. P. 22–33 (in Russ.).
- Ganeshin G.S.* Origin of the Shantar Islands. Priroda. 1956. V. 4. P. 91–93 (in Russ.).
- Hawksworth D.L.* Mycologist’s Handbook. CAB International, Surrey, 1974.
- Erofeeva E.A., Bulakh E.M.* First data on the agaricoid basidiomycetes of the Anyuiskiy National Park (Khabarovsk Territory). Mikologiya i fitopatologiya. 2015. V. 49 (2). P. 80–90 (in Russ.).
- Erofeeva E.A., Bukharova N.V.* First data on aphylloroid fungi of the Anyuiskiy National Park (Khabarovsk Territory). Mikologiya i fitopatologiya. 2018. V. 52 (3). P. 167–173 (in Russ.).
- Index Fungorum. <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>. 2020. Accessed 17.01.2020.
- Kirichuk N.N., Pivkin M.V.* Secondary marine fungi associated with brown algae *Sargassum* spp. from Peter the Great Bay (Japan Sea). Mikologiya i fitopatologiya. 2015. V. 49 (3). P. 146–150 (in Russ.).
- Middendorf A.F.* Travels to the north and east of Siberia. V. 1: North and East Naturally. The Department 4: Siberian vegetation. Printing House of the Imperial Academy of Sciences, St. Petersburg, 1867 (in Russ.).
- Nechaev A.P.* Shantar Islands. In: Problems of the Far East geography. V. 2. Khabarovsk. 1955. P. 18–35 (in Russ.).
- Prochorov V.P.* Families *Ascobolaceae* (coprotrophic species), *Iodophanaceae* (coprotrophic species), *Ascodesmidaceae*, *Pezizaceae* (coprotrophic species), *Pyronemataceae* (coprotrophic species), *Thelebolaceae* (coprotrophic species). Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK, Moscow, 2004 (in Russ.).
- Raitviir A.G.* *Helotiales* Nannf. In: Lower plants, fungi and bryophytes of the Soviet Far East. V. 2. Nauka, Leningrad, 1991 (in Russ.).
- Raitviir A.G., Bogacheva A.V.* Discomycetes from Moneron Island. In: Flora and Fauna of Moneron Island (Materials of International Sakhalin Project). Dalnauka, Vladivostok, 2006. P. 138–145 (in Russ.).
- Rebriev Yu.A., Bulakh E.M.* *Morganella sosinii* sp. nov. (*Agaricaceae*) from the Russian Far East. Mikologiya i fitopatologiya. 2015. V. 49 (5). P. 293–296.

- Shantar Islands spruce forests / Ed. Manko Yu.I. Vladivostok. 1984 (in Russ.).
- Shishkin I.K.* Shantar Islands Land Cover Materials. *Izvestiya Tihookeanskoy nauchno-promislovoy stantsii*. 1928. V. 2 (4). P. 7–48 (in Russ.).
- Shlotgauer S.D., Kryukova M.V.* Flora of protected areas of the coasts of the Russian Far East: Botchinsky, Dzhugdzhursky reserves, Shantarsky national park. Nauka, Moscow, 2005 (in Russ.).
- Shlotgauer S.D., Kryukova M.V.* Shantar Islands vegetation // *Geografiya i prirodnye resursy*. 2012. V. 3. P. 110–114 (in Russ.).
- Trautvetter E.R., Meyer C.A.* Florula Ochotensis phaenogama // *Middendorff A. Th. v. Reise in den äussersten Norden und Osten Sibiriens während der Jahre 1843 und 1844*. St. Petersburg: Buchdruckerei der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, 1856. Bd. 1. V. 2, abt. 2. P. 1–133.
- Vasilyeva L.N.* Hysteriaceous fungi in the Russian Far East. VI. *Glyphium, Lophium* and *Mytilinidion*. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2001. V. 35 (1). P. 15–18.
- Voronov B.A., Kryukova M.V. et al.* Functional zoning of the Shantar Islands National Park. *Geografiya i prirodnye resursy*. 2016. V. 2. P. 46–52 (in Russ.).
- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. и др.* (Barykina et al.) Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство. М.: Изд-во МГУ, 2000. 127 с.
- Богачева А.В.* (Bogacheva) Дискомицеты островной флоры Дальневосточного государственного Морского заповедника // *Материалы II международной научной конференции “Растения в муссонном климате”*. Владивосток: Дальнаука, 2000. С. 23–24.
- Богачева А.В.* (Bogacheva) Структура экологических группировок дискомицетов на острове Сахалин // *Растительный и животный мир острова Сахалин (Материалы Международного сахалинского проекта)*. Ч. 1. Владивосток: Дальнаука, 2004. С. 107–114.
- Богачева А.В.* (Bogacheva) Дополнительные сведения о микобиоте дискомицетов Уссурийского заповедника // *Биота и среда заповедных территорий*, 2019. Вып. 3. С. 65–70.
- Богачева А.В., Булах Е.М., Бухарова Н.В. и др.* (Bogacheva et al.) Грибы // *Сосудистые растения, водоросли и грибы государственного природного заповедника “Ботчинский”*. Владивосток: Дальнаука, 2015. С. 90–116.
- Богачева А.В., Булах Е.М., Бухарова Н.В. и др.* (Bogacheva et al.) Грибы // *Биота и почвы национального парка “Удэгейская легенда”*. Владивосток: Дальнаука, 2020. С. 169–209.
- Бухарова Н.В., Прозорова Л.А., Терновенко В.А.* (Bukharova et al.) Редкие и новые виды организмов Дальневосточного морского заповедника 5. Афиллофоровые грибы (Basidiomycota) острова Попова // *Биота и среда заповедных территорий*, 2019. Вып. 4. С. 22–33.
- Воронов Б.А., Крюкова М.В., Шлотгауэр С.Д. и др.* (Voronov et al.) Функциональное зонирование Национального парка “Шантарские острова” // *География и природные ресурсы*, 2016. № 2. С. 46–52.
- Ганешин Г.С.* (Ganeshin) Происхождение Шантарских островов // *Природа*, 1956. № 4. С. 91–93.
- Еловые леса Шантарских островов (Shantar Islands) Под ред. Ю.И. Манько. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1984. 135 с.
- Ерофеева Е.А., Булах Е.М.* (Erofeeva, Bulakh) Первые сведения об агарикоидах базидиомицетах Аноյского национального парка (Хабаровский край) // *Микология и фитопатология*. 2015. Т. 49. № 2. С. 80–90.
- Ерофеева Е.А., Бухарова Н.В.* (Erofeeva, Bukharova) Первые сведения об афиллофороидных грибах национального парка “Аноյский” (Хабаровский край) // *Микология и фитопатология*. 2018. Т. 52. № 3. С. 167–173.
- Киричук Н.Н., Пивкин М.В.* (Kirichuk, Pivkin) Вторичные морские грибы, ассоциированные с бурыми водорослями рода *Sargassum* залива Петра Великого (Японское море) // *Микология и фитопатология*. 2015. Т. 49. № 3. С. 146–150.
- Миддендорф А.Ф.* (Middendorf) Путешествия на север и восток Сибири. Ч. 1: Север и восток в естественно-историческом отношении. Отд. 4: Растительность Сибири. СПб.: Типография Императорской Академии наук, 1867. 758 с.
- Нечаев А.П.* (Nechaev) Шантарские острова // *Вопросы географии Дальнего Востока*. Вып. 2. Хабаровск, 1955. С. 18–35.
- Прохоров В.П.* (Prochorov) Семейства Ascobolaceae (копротрофные виды), Iodophanaceae (копротрофные виды), Ascodesmidaceae, Pezizaceae (копротрофный вид), Rugonemataceae (копротрофные виды), Thelebolaceae (копротрофные виды). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. 255 с.
- Райтвийр А.Г.* (Raitviir) Порядок Helotiales Nannf. // *Низшие растения, грибы и мохообразные Советского Дальнего Востока*. Т. 2. Л.: Наука, 1991. P. 254–363.
- Райтвийр А.Г., Богачева А.В.* (Raitviir, Bogacheva) Дискомицеты острова Монерон // *Растительный и животный мир острова Монерон (Материалы Международного сахалинского проекта)*. Владивосток: Дальнаука, 2006. С. 138–145.
- Шишкин И.К.* (Shishkin) Материалы по растительному покрову Шантарских островов // *Изв. Тихоокеанской научно-промышленной станции*. 1928. Т. 2. № 4. С. 7–48.
- Шлотгауэр С.Д., Крюкова М.В.* (Shlotgauer, Kryukova) Флора охраняемых территорий побережий российского Дальнего Востока: Ботчинский, Джугджурский заповедники, Шантарский национальный парк. М.: Наука, 2005. 264 с.
- Шлотгауэр С.Д., Крюкова М.В.* (Shlotgauer, Kryukova) Растительный покров Шантарских островов // *География и природные ресурсы*, 2012. № 3. С. 110–114.

## Data on Discomycetes of the Shantar Islands (Khabarovsk Territory)

A. V. Bogacheva<sup>a, #</sup>

<sup>a</sup> Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

<sup>#</sup>e-mail: bogacheva@biosoil.ru

In 2019, the mycological studies in the Far East of Russia were continued. A scientific expedition consisting of Far Eastern mycologists worked for a month in the Shantar Islands National Park. The park was organized in 2013. It is located on the archipelago of the same name in the southwestern part of the Sea of Okhotsk at the entrance to the Gulf of Tugur. One of its main tasks is to preserve the natural complexes of the coast of the Sea of Okhotsk, which have undergone significant changes since the discovery of the islands. But, if data on the composition of the flora are available, then there is no data on the species diversity of fungi. The aim of our work was to fill this gap by studying the “fungi” component of the protected plant communities of the park. We studied ascomycetous fungi in larch and spruce forests, thickets of cedar dwarf pine, alder and birch, as well as in swamps, coastal cliffs and gauze. We were able to obtain data on the location of 48 discomycetes species. Among them, there are species first observed for the Far Eastern District (*Heyderia cucullata*, *Spooneromyces laeticolor*) and for Russia (*Ascobolus epimyces*, *A. lignatilis*, *Bryoglossum rehmi* and *Geoglossum vleugelianum*).

**Keywords:** ascomycetes, cedar dwarf thickets, Far East of Russia, larch forests, mycobiota, national park, rare species, Shantar Islands, spruce forests

БИОРАЗНООБРАЗИЕ,  
СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 582.28 : 614.7(470.21)

ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ГРИБЫ ПРИБРЕЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ  
КОЛЬСКОГО ЗАЛИВА БАРЕНЦЕВА МОРЯ

© 2021 г. Е. А. Исакова<sup>1,2,\*</sup>, М. В. Корнейкова<sup>2,3,\*\*</sup>

<sup>1</sup> Кольский научный центр РАН, 184209 Апатиты, Россия

<sup>2</sup> Институт проблем промышленной экологии Севера КНЦ РАН, 184209 Апатиты, Россия

<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов, 117198 Москва, Россия

\*e-mail: ya.kristina-i2014@yandex.ru

\*\*e-mail: korneykova.maria@mail.ru

Поступила в редакцию 04.08.2020 г.

После доработки 07.11.2020 г.

Принята к публикации 21.12.2020 г.

Представлены данные по видовому разнообразию и потенциальной патогенности микроскопических грибов, выделенных из субстратов прибрежных территорий Кольского залива Баренцева моря. Из 34 видов микромицетов, относящихся к родам *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Isaria*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Purpureocillium* отдела *Ascomycota*, 23 вида встречались в объектах пос. Белокаменка и 25 видов – г. Кола. Общими оказались 14 видов микроскопических грибов, принадлежащих к родам *Acremonium*, *Aspergillus*, *Isaria*, *Trichoderma*, *Penicillium*. Среди выделенных микромицетов 24 вида (71%) относились к группе потенциально патогенных, из которых доминантными видами по индексу обилия в пос. Белокаменка были 21% видов грибов: *Acremonium charticola*, *Isaria farinosa*, *Penicillium aurantiogriseum* st. 1, *P. simplicissimum* st. 1, *Talaromyces purpureogenus*, *Trichoderma viride* st. 1. В г. Кола по данному экологическому показателю доминировали 15% выделенных микромицетов: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium decumbens*, *P. spinulosum* st. 1, *P. aurantiogriseum* st. 1., *Trichoderma viride* st. 2. По результатам оценки протеазной и фосфолипазной активностей грибов и способности роста при 37°C семь штаммов обладали тремя факторами патогенности. Микромицеты *Aspergillus flavus* st. 1, *A. flavus* st. 2, *A. niger*, *Talaromyces purpureogenus*, *P. glabrum*, *P. simplicissimum* st. 2, *Isaria farinosa* могут представлять потенциальную угрозу человеку в суровых природно-климатических условиях Крайнего Севера в виде инвазий на клеточном и тканевом уровнях.

**Ключевые слова:** биологическая безопасность, видовое разнообразие микромицетов, оппортунистические грибы, потенциальная патогенность, прибрежные территории, экзоферментная активность

DOI: 10.31857/S0026364821030041

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время прибрежные зоны и морские акватории испытывают значительные антропогенные нагрузки, обусловленные поступлением больших объемов различных загрязняющих веществ (Boychenko, 2019). В то же время в прибрежных районах происходит наиболее интенсивное биопродуцирование органического вещества, сосредоточены основные ресурсы моря (Nemirovskaya, 2013). Загрязняющие вещества способны стимулировать развитие патогенных микроорганизмов, приводить к увеличению их численности, тем самым повышая риски дополнительного загрязнения окружающей среды и ставя под сомнение ее биологическую безопасность.

На сегодняшний день проблемам биологической безопасности уделяется все большее внимание (Ozerskaya et al., 2011). Так, в последние десятилетия широко и активно изучается вопрос кон-

таминации грибами среды обитания человека и проблемы формирования специфических антропогенных микоценозов, негативно влияющих на его здоровье (Hedayati et al., 2007; Marfenina, Fomicheva, 2007; Vicente et al., 2008; Bogomolova et al., 2009; Ozerskaya et al., 2011; Kuzikova et al., 2012; Šegvić Klarić, 2012; Sobolev, Aak, 2012; Park et al., 2013; Babaeva et al., 2015; Mosina et al., 2017; Hadebe, Brombacher, 2019; Krylova et al., 2019; Reddy et al., 2019; Yen et al., 2020; Sangeetha et al., 2020; Tayeb, 2020).

Среди широкого многообразия микроскопических грибов в природе существуют потенциально патогенные грибы (ППГ), которые способны вызывать микозы человека (De Hoog et al., 2000; Ozerskaya et al., 2007). Такие микромицеты также называют оппортунистическими грибами. Они обитают во внешней среде, разлагая отмерший органический субстрат или паразитируя на растении-





Рис. 1. Карта расположения мест отбора проб. Кольский залив: 1 – г. Кола, 2 – пос. Белокаменка.

ях (Kulko, 2012). При благоприятных условиях грибы-оппортунисты в виде спор или фрагментов мицелия внедряются в ткани человека и размножаются, давая начало микотическому процессу и вызывая различные по локализации и клиническим формам микозы (Zachinyaeva et al., 2018; Gosmanov et al., 2019). Обычной причиной заражения возбудителями микозов во внешней среде является вдыхание спор грибов, а в случае повреждения кожных покровов занос в раны инфекции, причем часто из почвы. При вдыхании крупные споры (более 5 мкм) проникают недалеко и обычно вызывают заболевания носоглотки, в первую очередь, синуситы. Более мелкие споры (1–5 мкм) могут достигать альвеол и вызывать глубокие микозы (Marfenina, Fomicheva, 2007). Главная причина развития микозов – изменение функциональной активности иммунной системы (Zachinyaeva et al., 2018).

В различных странах и международных организациях используются разные классификации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов по категориям биологического риска. По определению Европейского экономического сообщества (Directive 2000/54/EC, 2000) выделяют “уровни биологического риска” (biosafety level, BSL) от BSL 4 – самого высокого, до BSL 1 – самого низкого, к которому относят грибы, способные вызывать заболевания человека в случае значительного снижения иммунного статуса. В Российской Федерации согласно Санитарно-эпидемиологическим правилам СП 1.3.2322-08 используют понятие “группы патогенности” от первой группы –

самой опасной, где грибов нет, до четвертой, включающей условно патогенные грибы (Ozerskaya et al., 2007; Elinov et al., 2011). Однако принципиальным отличием двух разных систем является то, что российские правила заранее считают включенные в списки виды микроорганизмов опасными для человека, присваивая им статус определенной группы патогенности. В значительной степени такое присвоение статуса патогенности не соответствует действительности, т.к. патогенные свойства каждого отдельного штамма должны быть проверены и доказаны. В особенности это может быть отнесено к видам, включенным в четвертую группу патогенности, куда в настоящее время входит огромное число видов грибов – как известных возбудителей дерматомикозов, так и обычных, широко распространенных, почвенных грибов (Elinov et al., 2011).

В современной ситуации невозможно предсказать, какие микроорганизмы, ранее не упоминавшиеся в качестве возбудителей инфекционных заболеваний, при создании определенных экологических условий в совокупности с ослабленной иммунной системой человека могут оказаться серьезными патогенами (Ozerskaya et al., 2007). Мурманская обл., как регион Крайнего Севера, является зоной с суровыми природно-климатическими факторами, такими как низкие температуры, высокая относительная влажность, тяжелый аэродинамический режим и др. Система дыхания человека в таких условиях является открытой к контакту с неблагоприятными природно-климатическими факторами и испытывает большую нагрузку с их стороны (Gudkov, Poroova, 2008). Поэтому потенциально патогенные грибы, первостепенно инвазирующие органы дыхания, представляют наибольший интерес в плане оценки экологической безопасности среды обитания человека.

Цель работы – изучение видового состава комплексов микроскопических грибов прибрежных территорий Кольского залива Баренцева моря, выявление среди них оппортунистических грибов с последующей оценкой их потенциальной патогенности на основе анализа ферментативной активности и способности роста при температуре 37°C.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор образцов субстратов (морская вода, затапливаемый прибрежный грунт, прибрежная почва) проводили в районе Кольского залива Баренцева моря в точках г. Кола и пос. Белокаменка в октябре 2017 г. (рис. 1).

Водные и почвенные образцы отбирали стерильно в 3–5-кратной повторности по стандартным методикам (Zvyagintsev, 1991; GOST 31861-2012). Всего проанализировано 28 образцов, каждый из которых анализировали в трех повторностях. Для приготовления почвенной суспензии навеску



почвы с учетом влажности растворяли в воде, затем готовили суспензии до второго  $10^{-2}$  (песок) и третьего  $10^{-3}$  (почвогрунты) разведения. Водные пробы анализировали без разведения. Учет численности микроскопических грибов проводили методом глубинного посева (по 0.5 мл соответствующей суспензии) на питательную среду сусло-агар с последующим выделением чистых культур. Чистые культуры микромицетов хранили в криопробирках с глицерином в низкотемпературной морозильной камере Premium U410 (Германия) при  $-72^{\circ}\text{C}$ . Идентификацию грибов выполняли с использованием светового микроскопа Olympus CX41 (Япония) на основе культурально-морфологических признаков по определителям российских и зарубежных авторов (Egorova, 1986; Klich, 2002; Domsch et al., 2007), названия таксонов унифицировали с использованием базы данных Index Fungorum (2020).

Для характеристики структуры сообществ культивируемых грибов прибрежных территорий Баренцева моря определяли индекс обилия видов, который показывает их значимость в данных сообществах и равен отношению колоний конкретного вида к общему числу колоний, выросших при посеве образцов данного объекта (Kurakov, 2001).

Списки потенциально патогенных видов грибов уточняли по определителям (De Hoog et al., 2000; Satton et al., 2001), руководству (Elinov et al., 2011) и на основе нормативного документа SP 1.3.2322-08.

Микроскопические грибы, относящиеся к ППГ (29 видов), анализировали на наличие протеазной и фосфолипазной активности, а также на способность роста при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . Фосфолипазную активность определяли на питательной среде с яичным желтком (Price et al., 1982), протеазную активность – на питательной среде с добавлением бычьего сывороточного альбумина (Fotedar, Al-Hedaithy, 2005). Инокулируемые микромицетами чашки Петри инкубировали при температуре  $27^{\circ}\text{C}$  в течение 7–10 суток. Затем измеряли диаметр колонии и диаметр колонии с зоной помутнения/просветления, образующейся под воздействием внеклеточных фосфолипаз/протеаз гриба. Коэффициент ферментативной активности определяли по формуле  $P = D_k/D (k + \text{з.п.})$ , где  $D_k$  – диаметр колонии,  $D (k + \text{з.п.})$  – диаметр колонии с учетом зоны помутнения/просветления. Значение коэффициента ферментативной активности равное 1.0 свидетельствовало об отсутствии ее у исследуемых микромицетов; значения коэффициента, равные 0.6–0.4 и ниже, указывали на интенсивное выделение в среду экзоферментов (Price et al., 1982; Fotedar, Al-Hedaithy, 2005).

У быстрорастущих грибов фосфолипазную и протеазную активность определяли на 3–4-е сутки инкубирования в связи с активным ростом и обильным спороношением.

Исследование роста и выживаемости культур грибов при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  проводили на агаризованной среде Чапека. Грибы первоначально выращивали при комнатной температуре в течение нескольких дней (для контроля жизнеспособности культуры). После появления визуально различимой зоны роста колонии фиксировали ее диаметр и помещали культуру в термостат, где инкубировали в течение 7–15 дней при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . При отсутствии роста в течение 15 дней продолжали инкубировать культуру при комнатной температуре и определяли ее жизнеспособность. Часть культур теряла жизнеспособность в период инкубации при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  (Kirtsideli, 2019).

Каждый штамм тестировали в трех повторностях. Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Microsoft Office Excel, 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Видовое разнообразие микромицетов.** Видовое разнообразие микроскопических грибов прибрежных территорий Баренцева моря относительно небогатое. Всего из образцов исследуемых субстратов г. Кола и пос. Белокаменка было выделено 80 изолятов микромицетов, принадлежащих к 34 видам из 10 родов отдела *Ascomycota*: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Isaria*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Sarocladium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* (табл. 1).

Большинство выделенных родов (*Penicillium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Isaria*) встречаются в районах арктических поселений (Kirtsideli et al., 2011, 2016; Evdokimova, 2014; Evdokimova et al., 2016), в водах, донных грунтах и береговых экотопах арктических морей (Bubnova, 2005, 2017a; Bubnova, Nikitin, 2017b; Bubnova et al., 2018a, 2018b; Kirtsideli et al., 2012), в почвах и грунтах полярных пустынь (Kirtsideli, 2015). Эти грибы можно считать космополитами, они, вероятнее всего, попадают в Арктику вместе с человеком (Kirtsideli et al., 2016). Среди них значительную долю составляют условно патогенные грибы, а также известные деструкторы материалов (Kirtsideli et al., 2011, 2016). Кроме того, в работах авторов (Bubnova, Nikitin, 2017b; Bubnova et al., 2018a, 2018b; Kirtsideli et al., 2012, 2018) выявлены темноокрашенные грибы, а также представители отдела *Mucoromycota*. Однако в наших исследованиях таких грибов выявлено не было. Возможно, это связано со специфичностью исследуемых субстратов, т.к. песок и прибрежная почва существенно отличаются от фоновых почв Севера.

Среди микромицетов, выделенных из субстратов прибрежных зон Баренцева моря, 23 (68%) видов встречались в пос. Белокаменка, из них 7 (20%) обнаружены в морской воде, 18 (53%) – в затопляемых грунтах, 13 видов (38%) – в почве берего-

**Таблица 1.** Видовой состав и обилие (%) микроскопических грибов, выделенных с прибрежных территорий Баренцева моря

Виды микромицетов	пос. Белокаменка			г. Кола		
	субстраты					
	В	З/Г	П	В	З/Г	П
* <i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	71	22	8			10
* <i>Acremonium</i> sp. st. 1			0.8			
* <i>Acremonium</i> sp. st. 2						30
* <i>Aspergillus flavus</i> Link st. 1		5	0.6			
* <i>A. flavus</i> Link st. 2					6	
* <i>A. fumigatus</i> Fresen.	25				1.6	11.5
* <i>A. niger</i> Tiegh.		11	1			10
* <i>Fusarium oxysporum</i> Schldtl.				33		
* <i>Isaria farinosa</i> (Holmsk.) Fr.		40	23		21	28
* <i>Paecilomyces</i> sp.		2				
* <i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx st. 1		67			35	12
* <i>P. aurantiogriseum</i> Dierckx st. 2			1			
* <i>P. brevicompactum</i> Dierckx		7				
* <i>P. camemberti</i> Thom	20					
* <i>P. canescens</i> Sopp		7				
* <i>P. chrysogenum</i> Thom		2	3.6			
<i>P. corylophilum</i> Dierckx	71	22	8			
* <i>P. decumbens</i> Thom				33	1.7	
<i>P. dierckxii</i> Biourge		12				
* <i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling					25	
<i>P. hirsutum</i> Dierckx	7	37			6.5	
<i>P. implicatum</i> Biourge				1		
<i>P. jensenii</i> K.W. Zaleski						
* <i>P. miczynskii</i> K.W. Zaleski					1.7	
<i>P. nalgiovense</i> Laxa					17	
* <i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom st. 1	59		9			24
* <i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom st. 2	26	4				
<i>P. raistrickii</i> G. Sm.			34			8
* <i>P. spinulosum</i> Thom st. 1	59			33	1.7	
* <i>P. spinulosum</i> Thom st. 2	50				16	
<i>P. thomii</i> Maire		9			1.7	
<i>Penicillium</i> sp.					11	
* <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones et Samson					20	36
* <i>Sarocladium terricola</i> (J.H. Mill., Giddens et A.A. Foster) A. Giraldo, Gené et Guarro					1.7	
* <i>Talaromyces purpureogenus</i> Samson, N. Yilmaz, Houbraken, Spierenb., Seifert, Peterson, Varga et Frisvad		17	9		5	10
* <i>Trichoderma koningii</i> Oudem.		7	5		15	20
<i>T. polysporum</i> (Link) Rifai		6.5			1.6	5.7
* <i>Trichoderma viride</i> Pers. st. 1		4	52			
* <i>T. viride</i> Pers. st. 2		8			37	52
Светлоокрашенный мицелий					1.6	

Примечание: В – морская вода, З/Г – затопляемые грунты, П – почва; \*виды грибов, изученные на потенциальную патогенность.

вой линии. В г. Кола было выделено 25 видов микромицетов, 4 вида (11%) из которых встречались в морской воде, 19 (56%) – в затопляемых грунтах и 13 видов (38%) – в почвах. В затопляемых грунтах в г. Кола также была выделена группа грибов со стерильным мицелием.

Общими для изучаемых местообитаний г. Кола и пос. Белокаменка оказались 14 видов микромицетов, среди них представители родов *Penicillium* (7 видов), *Aspergillus* (3 вида), *Trichoderma* (2 вида), *Acremonium* и *Isaria* (по 1 виду) (см. табл. 1).

**Опportunистические грибы исследуемых местообитаний.** К группе потенциально патогенных, среди всех выделенных грибов из субстратов прибрежных территорий Баренцева моря, принадлежали 24 вида (71%), в числе которых по количеству преобладали роды *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus* (табл. 1). Грибы этих родов встречались во всех анализируемых субстратах, что свидетельствует об их эвритопности, т.е. широком диапазоне толерантности к неблагоприятным экологическим условиям и способности утилизировать разные субстраты, по сравнению с другими видами микромицетов изучаемых местообитаний.

Причиной такого большого количества потенциально патогенных грибов в изучаемых субстратах может быть, с одной стороны, смещение их рН в область нейтральной и слабощелочной реакции (Marfenina, 2002), а с другой стороны, наличие в них дополнительных источников питания для грибов в виде загрязняющих веществ органической и неорганической природы.

Необходимо отметить, что больше половины выделенных видов для каждого субстрата относились к группе ППГ (табл. 2). Наибольшим разнообразием микромицетов как в пос. Белокаменка, так и в г. Кола отличался затопляемый грунт, который представляет собой приливно-отливную зону морской акватории и характеризуется приносом видов из морской воды и прибрежной почвы. В данном субстрате в г. Кола обнаружено 56% от всех выделенных грибов, в пос. Белокаменка – 53%; на долю ППГ для обоих местообитаний приходилось по 38% грибов. В почвенных субстратах обоих местообитаний выделено по 38% грибов; при этом потенциально патогенными оказались почти все выделенные виды. Наименьшее количество видов микромицетов характерно для морской воды, где разница по их количеству в обоих районах исследования отличалась почти в два раза.

В пос. Белокаменка в субстрате “морская вода” по индексу обилия среди потенциально патогенных доминировали грибы *Acremonium charticola*, *Penicillium simplicissimum* st. 1, *P. spinulosum* st. 1 (см. табл. 1). В затопляемых грунтах в данном местообитании оказались значимыми *P. aurantiogriseum* st. 1 и *Isaria farinosa*, в прибрежной почве – *Trichoderma viride* st. 1. В г. Кола среди ППГ в субстрате мор-

**Таблица 2.** Соотношение выделенных видов микроскопических грибов в разных субстратах (%)

Субстраты	Количество видов грибов/из них ППГ	
	пос. Белокаменка	г. Кола
В	20/17	11/9
З/Г	53/38	56/38
П	38/32	38/35

Примечание: В – морская вода, З/Г – затопляемые грунты, П – почва.

ская вода доминировали *Fusarium oxysporum*, *Penicillium decumbens*, *P. spinulosum* st. 1, в затопляемых грунтах – *P. aurantiogriseum* st. 1. Микромицет *Trichoderma viride* st. 2 доминировал и в затопляемых грунтах, и в прибрежных почвах.

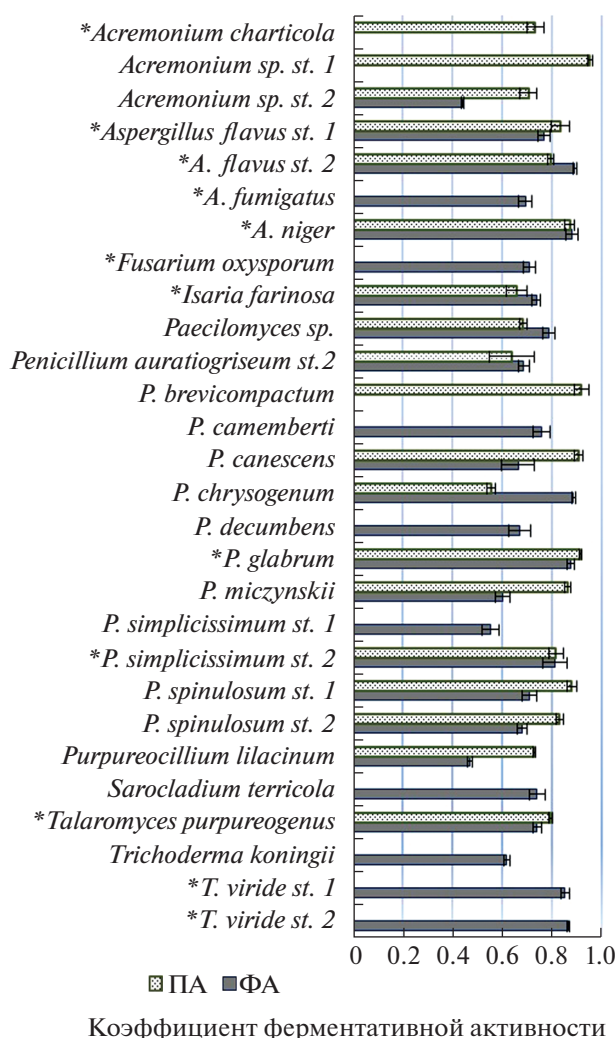
Особого внимания заслуживает факт, что среди ППГ исследуемых субстратов Баренцева моря были выделены характерные для более южных широт виды *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* (табл. 1). Ранее в наших работах было отмечено увеличение количества таких видов, а также установлена тенденция увеличения доли потенциально патогенных грибов в загрязненных нефтепродуктами почвах Кольского полуострова (Корнеукова et al., 2011) и промышленно загрязненных районах Мурманской области (Корнеукова, Lebedeva, 2017).

**Экзоферментная активность опportunистических грибов.** Потенциальная патогенность грибов определяется комплексом свойств адаптационного характера, позволяющих им противостоять защитным механизмам организма и осуществлять инвазию (Kuzikova et al., 2011). Такими факторами патогенности опportunистических грибов являются способность роста при температуре 37°C, меланизация, капсуляция клеток, мицелиально-дрожжевой диморфизм, способность к экстраклеточной секреции протеиназ и фосфолипаз и ряд других свойств (Cox et al., 2001; De Bernardis et al., 2001; Zachinyaeva et al., 2018).

Белки и фосфолипиды человека, выступающие основными компонентами клеточных оболочек, являются мишенью для атаки внеклеточных ферментов грибов (Kuzikova et al., 2011). Гидролитические грибные экзоферменты протеиназы способны разрушать поверхностный роговой слой кожи, а фосфолипазы – мембраны клеток тканей человека (Babaeva et al., 2015).

Результаты исследования экзоферментной активности опportunистических грибов, выделенных из субстратов прибрежных территорий Кольского залива Баренцева моря, представлены на рис. 2.

Фосфолипазная активность обнаружена у 25 видов (86%) ППГ. Величина коэффициента фосфолипазной активности изменялась от 0.44 до 0.87.



**Рис. 2.** Экзоферментная активность микроскопических грибов, выделенных из субстратов прибрежных территорий Кольского залива Баренцева моря: ПА – протеазная активность; КФА – фосфолипазная активность; \*грибы, у которых отмечен рост при 37°C.

Наиболее существенные значения этого показателя (0.44–0.62) отмечены у пяти видов: *Acremonium st. 2*, *Purpureocillium lilacinum*, *Penicillium simplicissimum st. 2*, *P. miczynskii*, *Trichoderma koningii*.

Известно, что фосфолипазы С по принципу действия субстратной специфичности работают как фосфатазы, расщепляя глицерофосфатную связь фосфолипидов с высвобождением внеклеточных сигнальных молекул (инозитолтрифосфатов) (Cocco et al., 2015; Filkin et al., 2020). Следовательно, эти ферменты могут играть важную роль в формировании адаптационных механизмов у грибов при действии на них различных экстремальных факторов (Smirnov et al., 2002). В качестве экстремальных условий в высоких широтах могут выступать низкие температуры окружающей среды, бедные по отношению доступного органиче-

ского углерода природные субстраты, а также сниженные метаболические процессы микробиоты (Evdokimova, 2014). Скорее, именно адаптацией грибов к указанным природным условиям можно объяснить такой высокий процент видов, обладающих фосфолипазной активностью.

Также известно, что при выделении микромицетами внеклеточных фосфолипаз на среде с яичным желтком возникает помутнение среды вокруг грибной колонии. Это происходит за счет гидролиза липидов, содержащихся в яичном желтке, и последующего образования кальциевого комплекса с жирными кислотами (преципитата), освобождающимися под действием секретированного экзофермента (Vogomolova et al., 2012). Однако по нашим наблюдениям, у грибов *Penicillium canescens* и *P. miczynskii* отмечалось просветление преципитата на границе колонии и зоны действия экзоферментов, что объясняется присутствием липолитических или протеолитических ферментов в исследуемых грибах (Babaeva et al., 2015).

Протеазную активность на среде с бычьим сыровороточным альбумином проявили 19 штаммов (65%) микроскопических грибов (рис. 2). Коэффициент протеазной активности изменялся в пределах от 0.56 до 0.95. При этом наиболее активно в питательную среду внеклеточные протеазы выделяли грибы *Penicillium chrysogenum*, *P. aurantiogriseum st. 2*, *Isaria farinosa*, значения коэффициента их протеазной активности равны 0.56, 0.64, 0.66 соответственно. Кроме того, после завершения инкубационного периода в течение 10 суток при 27°C эти колонии давали хорошее спороношение на питательной среде.

Все грибы рода *Aspergillus* активно развивались на средах и с яичным желтком, и с добавлением бычьего сыровороточного альбумина. Уже на 3–4-е сутки инкубирования у микромицетов был отмечен быстрый рост, обильное спорообразование и выделение экзоферментов в агаризованные питательные среды. Исключение составил штамм *A. fumigatus*, он слабо развивался на среде для определения протеазной активности с образованием тонкого паутинистого мицелия.

Интересно отметить, что все тестируемые штаммы рода *Trichoderma* обладали лишь фосфолипазной активностью. Значения коэффициента ферментативной активности у штаммов *T. viride st. 1* и *T. viride st. 2* оказались фактически равны, т.е. они обладали одинаковой степенью патогенности.

Штаммы *Penicillium simplicissimum st. 1* и *P. simplicissimum st. 2*, а также *P. aurantiogriseum st. 2* и *P. aurantiogriseum st. 1*, наоборот, проявляли разные свойства патогенности. Последний штамм не имел ни одного из исследуемых физиолого-биохимических свойств, отвечающих за патогенность.

Способность микроскопических грибов к росту при 37°C является важным признаком, по ко-

тому медицинские микологи выделяют обладающие патогенными свойствами грибы в группу ППГ (Kuzikova et al., 2011).

По результатам наших исследований, рост колоний потенциально патогенных грибов при температуре 37°C на агаризованной среде Чапека отмечен у 41% тестируемых видов. Наилучший рост и развитие показали *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* st. 1, *A. flavus* st. 2, *Acremonium charticola*, *Trichoderma viride* st. 1. Спорообразование на 7–10-е сутки инкубирования выявлено у большинства исследуемых микромицетов за исключением *Penicillium aurantiogriseum* st. 1, *P. glabrum*, *Trichoderma viride* st. 2, *T. koningii*. Эти штаммы имели слабо развитый, погруженный в агар, паутинистый мицелий.

На основе оценки факторов патогенности установлено, что среди исследуемых грибов потенциальную опасность для человека могут представлять шесть видов (21%): *Aspergillus flavus* st. 1, *A. flavus* st. 2, *A. niger*, *Talaromyces purpureogenus*, *Penicillium glabrum*, *P. simplicissimum* st. 2, они обладали протеазной, фосфолипазной активностью и способностью роста при 37°C. Микромицет *Isaria farinosa* также обладал тремя факторами патогенности, однако строго говорить о наличии патогенных свойств для человека у данного гриба мы не можем. Несмотря на то, что род *Isaria* включен в официальные списки групп патогенности, уровень риска на здоровье человека для этого вида не определен (Elinov et al., 2011).

Четырнадцать видов (48%) грибов проявляли активность двух каких-либо факторов патогенности, семь видов (24%) обладали хотя бы одним из них и лишь единственный вышеупомянутый вид, *Penicillium aurantiogriseum* st. 1 не имел ни одного фактора патогенности.

Очевидно, что чем интенсивнее оппортунистические грибы выделяют гидролитические экзоферменты для расщепления субстратов, тем более агрессивными они являются, повышая свои инвазивные способности (Bezshapochnuu et al., 2018). Важно отметить, что у выявленных потенциально опасных микромицетов, обладающих тремя факторами патогенности, установлены достаточно большие значения коэффициентов ферментативной активности (табл. 3), что свидетельствует об их невысокой потенциальной агрессивности для возможной инвазии и развития инфекционного процесса.

Грибы, обладающие тремя факторами патогенности – *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Isaria farinosa* и *Talaromyces purpureogenus* – встречались в пос. Белокаменка и в г. Кола в почвенных субстратах и затопляемых грунтах. Штамм *Penicillium glabrum* встречался только в г. Кола в затопляемых грунтах, а *P. simplicissimum* st. 2 – в морской воде и затопляемых грунтах пос. Белокаменка (табл. 1). Общая информация о микологических свойствах

**Таблица 3.** Результаты культурального тестирования потенциально патогенных грибов, обладающих тремя факторами патогенности (протеазной, фосфолипазной активностью и способностью роста при 37°C)

Виды микромицетов	Коэффициент ферментативной активности	
	ПА	ФА
<i>Aspergillus flavus</i> st. 1	0.84 ± 0.04	0.77 ± 0.02
<i>A. flavus</i> st. 2	0.80 ± 0.01	0.89 ± 0.01
<i>A. niger</i>	0.87 ± 0.02	0.88 ± 0.03
<i>Isaria farinosa</i>	0.66 ± 0.04	0.74 ± 0.02
<i>Penicillium simplicissimum</i> st. 2	0.80 ± 0.03	0.81 ± 0.05
<i>P. glabrum</i>	0.91 ± 0.01	0.88 ± 0.01
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	0.80 ± 0.01	0.74 ± 0.02

Примечание: ПА – протеазная активность; ФА – фосфолипазная активность.

и экологических характеристиках этих оппортунистических грибов представлена в табл. 4.

Анализ показал, что рассматриваемые виды ППГ имеют терригенное происхождение, широко распространены по земному шару и могут расти на различных субстратах. Эти грибы, как в естественных, так и в лабораторных условиях способны давать обильное спороношение. По нашим наблюдениям, у всех изученных штаммов, за исключением *P. glabrum*, отмечен хороший рост при температуре 37°C и способность к обильному образованию спор. При температуре 37°C у данного микромицета спороношение не обнаружено.

Учитывая, что заражение человека оппортунистическими грибами обычно происходит через дыхательную систему, стоит обратить внимание на размеры спор и на их способность к переносу на большие расстояния от места зарождения, а также на длительность переживания во внешней среде при неблагоприятных условиях (Zachinyaeva et al., 2018). По данным табл. 4 нами отмечено, что конидии у исследуемых грибов по размеру не превышают 5 мкм (а чаще равны 3–3.5 мкм). Такой размер спор способствует почти беспрепятственному проникновению их в легочно-дыхательные пути человека, повышая инвазивный потенциал возбудителей микозов.

Согласно классификации потенциально патогенных грибов С. де Хога (De Hoog et al., 2000) наибольшую опасность из рассматриваемых грибов для здоровья человека может представлять вид *Aspergillus flavus*, который отнесен во вторую группу риска BSL 2, характеризующуюся как грибы, способные попадать в организм здорового человека и сохраняться в нем, вызывая локализованные микозы. Остальные виды (*Aspergillus niger*, *Penicillium glabrum*, *P. simplicissimum*, *Talaromyces purpureo-*

Таблица 4. Характеристика оппортунистических грибов прибрежных территорий Баренцева моря

Вид патогена	Характер и особенности роста колоний при 37°C	Размер спор, мкм	Инфекционное заболевание	Вызываемые заболевания, клинические проявления	Экология, распространение	Уровень биологического риска, BSL	Группа патогенности
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Aspergillus flavus</i>	Быстрый рост, на 7-е сутки разрастается по всей чашке, обильное спороношение	3.5–4.5 (реже 5.0)	Аспергиллез	Возбудитель пневмонии, микотоксикоза, отита, синусита, инвазивного микоза и других инфекционных заболеваний, провоцирует развитие инфаркта и некроза, вызывает поражение почек и печени	Широко распространен, часто выделяем в тропических регионах, встречается в почве, на гниющем растительном материале, пищевых продуктах	2	III
<i>Aspergillus niger</i>	Быстрый рост, на 7-е сутки разрастается по всей чашке, обильное спороношение	4.0–5.0	то же	Выявляется обычно как вторичный инфицирующий организм после бактериального отита; вызывает рениты, провоцирует заболевания легких	Широко распространен, встречается в почве и на растениях, в пищевых продуктах, хорошо растет на различных субстратах	1	IV
<i>Penicillium glabrum</i>	Слабый рост мицелия без спороносящих структур	3.0–3.5	Пенициллез	Вызывает аллергический альвеолит, пневмонию, поражение почек или снижение их функции	Широко распространен, в т.ч. в кислых почвах, на злаковых растениях и зерне, на пищевых продуктах	1	IV
<i>Penicillium simplicissimum</i>	Умеренный рост, дает дочерние колонии, спороношение	2.5–3.0	то же	Вызывает тремор позвоночных животных, атаксию, мышечную ригидность; провоцирует вирусные инфекции	Широко распространен, встречается в почве, эндофит	1	IV
<i>Talaromyces purpurigenus</i>	Хороший рост, дает дочерние колонии, спороношение	3.0–3.5	“ “	Вызывает леточные инфекции и поражения печени, редкие случаи синуситов	Широко распространен, встречается в почве и во влажных местообитаниях	1	IV

Примечание. Данные по: (1) – De Hoog G.S. et al. (2000); Sattton et al. (2001); Elinov et al. (2011); SP 1.3.2322-08; (2) – на основе собственных наблюдений; (3,6) – Egorova (1986); Sattton et al. (2001); Domsch et al. (2007); (4, 5) – Sattton et al. (2001); Gupta (2007); Hyalophomycosis: [site]. URL: [https://doctorspb.ru/articles.php?article\\_id=1721](https://doctorspb.ru/articles.php?article_id=1721); SP 1.3.2322-08; Zachinyaeva et al. (2018); Gosmanov et al. (2019); (7) – De Hoog G.S. et al. (2000); Elinov et al. (2011); (8) – SP 1.3.2322-08.

*genus*) отнесены в первую группу риска BSL 1 как безопасные для здоровых людей грибы (De Hoog et al., 2000).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разнообразие микроскопических грибов, выделенных из субстратов прибрежных территорий Кольского залива Баренцева моря, относительно небогатое и представлено видами грибов аскомицетного аффинитета. Наибольшим разнообразием сообществ микромицетов как в пос. Белокаменка, так и в г. Кола отличался затопляемый грунт. Среди выделенных микромицетов 71% видов грибов оказался потенциально патогенным, 50% встречались в пос. Белокаменка, 53% – в г. Кола. В пос. Белокаменка среди ППГ по индексу обилия доминировали *Acremonium charticola*, *Penicillium simplicissimum* st. 1, *P. spinulosum* st. 1, *P. aurantiogriseum* st. 1 и *Isaria farinosa*, *Trichoderma viride* st. 1. В г. Кола по данному экологическому параметру значимыми оказались *Fusarium oxysporum*, *Penicillium decumbens*, *P. spinulosum* st. 1, *P. aurantiogriseum* st. 1., *Trichoderma viride* st. 2. Наиболее опасными, обладающими протеазной, фосфолипазной активностью и способностью роста при 37°C, оказались семь штаммов грибов: *Aspergillus flavus* st. 1, *A. flavus* st. 2, *A. niger*, *Talaromyces purpureogenus*, *Penicillium glabrum*, *P. simplicissimum* st. 2 и *Isaria farinosa*. Поскольку эти грибы представляют потенциальную угрозу человеку в виде инвазий на клеточном и тканевом уровне, необходимо уделять особое внимание мониторинговым исследованиям микологического состояния природных субстратов, с которыми контактирует человек, оценивать возможное распространение потенциально опасных видов и степень их агрессивности.

Авторы выражают благодарность к.б.н. В.А. Мязину (ИППЭС КНЦ РАН) за помощь в организации и проведении полевых работ. Проведение полевых работ выполнено за счет проекта Коларктик КО1001. Выделение, учет и идентификацию видов микроскопических грибов осуществляли в рамках темы НИР по госзаданию АААА-А18-118021490070-5. Анализ ферментативной активности микромицетов проводили в рамках темы НИР по госзаданию 0186-2019-0009.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Babaeva I.Kh., Aliyeva V.G., Qasumova S.Y.* Activity of hydrolytic enzymes of the micromycetes allocated from soil and rock Along gas pipeline route Astara-Kazimagomed. Nauchnyy fond "Biolog". 2015. V. 3 (7). P. 28–31 (in Russ.).
- Bezshapochny S.B., Zachepilo S.V., Polyanskaya V.P. et al.* Opportunistic mycoses of ENT organs. Part 1. Vestnik otorinolaringologii. 2018. V. 6. P. 67–71 (in Russ.). <https://doi.org/10.17116/otorino20188306167>
- Bogomolova E.V., Kirtsideli I.Yu., Minenko E.A.* Potentially dangerous microfungi from dwelling houses. Mikologiya i fitopatologiya. 2009. V. 43 (6). P. 506–513 (in Russ.).
- Bogomolova E.V., Velikova T.D., Goryaeva A.G. et al.* Microfungi in the air of Saint Petersburg. Khimizdat, SPb., 2012. 215 p. (in Russ.).
- Boychenko T.V.* Experience of microbial indication methods application in evaluating the environmental quality of the chronically polluted marine aquatories. Vestnik SVFU. 2019. V. 2 (70). P. 5–13 (in Russ.). <https://doi.org/10.25587/SVFU.2019.70.28396>
- Bubnova E.N.* Changes in the complexes of soil fungi during the transition from zonal soils to marine ecotopes (on the example of the coast of the Kandalaksha Gulf of the White Sea). Cand. Sci. Thesis. Moscow, 2005 (in Russ.).
- Bubnova E.N.* Diversity of microscopic fungi in lithorhial sands of the White Sea. Vestnik Moskovskogo universiteta. 2017a. V. 72 (3). P. 142–148 (in Russ.).
- Bubnova E.N., Georgieva M.L., Grum-Grzhimailo O.A.* Method for isolation and enumeration of fungi developing in marine sediments. Mikrobiologiya. 2018a. V. 87 (6). P. 672–678 (in Russ.). <https://doi.org/10.1134/S002636561806006X>
- Bubnova E.N., Konovalova O.P.* Diversity of the filamentous fungi on the littoral and sublittoral sediments of the Barents Sea (Near the Dalnie Zelentsy Settlement). Mikologiya i fitopatologiya. 2018b. V. 52 (5). P. 319–327. (in Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0026364818050021>
- Bubnova E.N., Nikitin D.A.* Fungi in bottom sediments of the Barents and Kara Seas. Biologiya morya. 2017b. V. 43 (5). P. 366–371 (in Russ.).
- Cocco L., Follo M.Y., Manzoli L. et al.* Phosphoinositide-specific phospholipase C in health and disease. Journal of lipid research. 2015. V. 56 (10). P. 1853–1860. <https://doi.org/10.1194/jlr.R057984>
- Cox G.M., McDade H.C., Chen S.C. A. et al.* Extracellular phospholipase activity is a virulence factor for *Cryptococcus neoformans*. Mol. Microbiol. 2001. V. 39 (1). P. 166–175.
- De Bernardis F., Sullivan P.A., Cassone A.* Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. Med. Mycology. 2001. V. 39 (4). P. 303–313.
- De Hoog G.S., Guarro J., Gene J. et al.* Atlas of clinical fungi. Sec. ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.
- Directive 2000/54/EC – biological agents at work [site]. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives/exposure-to-biological-agents/77>. Accessed 20.11.2020.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H.* Compendium of soil fungi. IHW-Verlag, Eching, 2007.
- Egorova L.N.* Soil fungi of the Far East. Hyphomycetes. Nauka, Leningrad, 1986 (in Russ.).
- Elinov N.P., Vasileva N.V., Mamateva A.A. et al.* Pathogenic and conditionally pathogenic macro- and micromycetes as objects of the kingdom of mushrooms (*Fungi*), their characteristics taking into account the requirements of the international code of botanical nomenclature. Kosta, SPb., 2011 (in Russ.).



- Evdokimova G.A.* Soil microbiota as a factor of soil resistance to pollution. *Teoreticheskie problemy ekologii*. 2014. V. 2. P. 17–24 (in Russ.).
- Evdokimova G.A., Korneykova M.V., Mozgova N.P. et al.* Ecological and biological characteristics of soils in the border region of Russia – Norway. *Vestnik Kolskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2016. V. 1 (24). P. 89–99 (in Russ.).
- Filkin S.Yu., Lipkin A.V., Fedorov A.N.* The superfamily of phospholipases: structure, functions and application in biotechnology. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2020. V. 60. P. 369–410 (in Russ.).
- Fotedar R., Al-Hedaithy S.* Comparison of phospholipases and proteinase activity in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Mycoses*. 2005. V. 48. P. 62–67.
- Gosmanov R.G., Galiullin A.K., Nurgaliev F.M.* Mycology and mycotoxicology. Lan, SPb., 2019 (in Russ.).
- GOST 31861–2012 Interstate standard. Water. General sampling requirements. 2012 (in Russ.).
- Gudkov A.B., Popova O.N.* Pulmonotropic factors of the European North (review). *Vestnik pomorskogo universiteta*. 2008. V. 2. P. 15–22 (in Russ.).
- Gupta R.C.* Veterinary toxicology. Basic and clinical principles. Acad. Press, 2007.
- Hadebe S., Brombacher F.* Environment and Host-genetic determinants in early development of allergic asthma. Contribution of Fungi. *Frontiers in Immunology*. 2019. V. 10. P. 1–15.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02696>
- Hedayati M.T., Pasqualotto A.C., Warn P.A. et al.* *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*. 2007. V. 153. P. 1677–1692.  
<https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/007641-0>
- Hyaloglyphomycosis // Medical portal for doctors and students: [2007–2019].  
[https://doctorspb.ru/articles.php?article\\_id=1721](https://doctorspb.ru/articles.php?article_id=1721). Accessed 05.17.2020 (in Russ.).
- Index Fungorum (2020). [A nomenclatural database]. <http://www.indexfungorum.org>. Accessed 20.11.2020.
- Kirtsideli I.Yu.* Microfungi in soils and grounds. In: *N.V. Matveeva* (ed.). Plants and fungi of the polar deserts of the Northern hemisphere. Marafon, SPb., 2015. P. 242–272 (in Russ.).
- Kirtsideli I.Yu.* Soil microscopic fungi in the ecosystems of the Arctic and Antarctic. *Dr. Sci.* SPb., 2019. (in Russ.).
- Kirtsideli I.Yu., Abakumov E.V., Teshebaev Sh.B. et al.* Microbial communities in regions of arctic settlements. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2016. V. 95 (10). P. 923–929 (in Russ.).  
<https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-10-923-929>
- Kirtsideli I.Yu., Vlasov D.Yu., Barantsevich E.P. et al.* Distribution of terrigenous microfungi in Arctic Seas. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2012. V. 46 (5). P. 306–310 (in Russ.).
- Kirtsideli I.Yu., Vlasov D.Yu., Krylenkov V.A. et al.* Airborne fungi in the areas of Russian Arctic stations near White, Barents and Kara Seas. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2011. V. 45 (3). P. 228–239 (in Russ.).
- Kirtsideli I.Yu., Vlasov D.Yu., Krylenkov V.A. et al.* Comparative study of airborne fungi at Arctic stations near water area of the Northern Sea route. *Ekologiya cheloveka*. 2018. V. 4. P. 16–21 (in Russ.).
- Klich M.A.* Identification of common *Aspergillus* species. Utrecht, 2002.
- Korneykova M.V., Evdokimova G.A., Lebedeva E.V.* The complexes of microscopic fungi in oil products polluted cultivated soil on Kola North. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2011. V. 45 (3). P. 249–256 (in Russ.).
- Korneykova M.V., Lebedeva E.V.* Mycobiota of the air layers in different natural and industrial zones of the Murmansk Region. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2017. V. 51 (4). P. 202–210 (in Russ.).
- Krylova I.O., Balandina S.Yu., Chetina O.A.* Complex analysis of mould micromycetes of inhabited barracks rooms. *Vestnik Permskogo universiteta*. 2019. V. 46. P. 167–174 (in Russ.).
- Kulko A.B.* Pathogens spectrum of deep human mycosis. *Onkogematologiya*. 2012. V. 3. P. 55–61 (in Russ.).
- Kurakov A.V.* Methods of isolation and characteristics of microscopic fungi complexes in terrestrial ecosystems. Maks Press, Moscow, 2001 (in Russ.).
- Kuzikova, I.L., Medvedeva, N.G., Sukharevich V.I.* Study of potential pathogenicity factors of fungi as contaminants in the Library of the Academy of Sciences. *Trudy laboratorii konservatsii i restavratsii dokumentov SPF ARAN*. 2011. V. 2. P. 237–245 (in Russ.).
- Kuzikova I.L., Tileva E.A., Troshcheva T.D. et al.* Potential pathogenicity of microfungi contaminating library funds. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2012. V. 46 (5). P. 329–333 (in Russ.).
- Marfenina O.E.* Dangerous mildew in the environment. *Priroda*. 2002. V. 11. P. 33–38 (in Russ.).
- Marfenina O.E., Fomicheva G.M.* Potentially pathogenic mycelial fungi in the human environment. Modern trend. In: *Yu.T. Dyakov, Yu.V. Sergeev* (ed.). *Mikologiya segodnya*. T. 1. Moscow, Natsionalnaya akademiya mikologii, 2007. P. 235–267 (in Russ.).
- Mosina L.V., Dovletyarova E.A., Efremova S.Yu.* Mycotoxins as an environmental hazard. Megaprint, Irkutsk, 2017. (in Russ.).
- Nemirovskaya I.A.* Oil in the ocean (pollution and natural flow). Nauchnyy mir, Moscow, 2013 (in Russ.).
- Ozerskaya S.M., Ivanushkina G.A., Kochkina N.E.* Taxonomic diversity of pathogenic fungi. *Mikologiya segodnya*. 2007. V. 1. P. 268–282 (in Russ.).
- Ozerskaya S.M., Ivanushkina G.A., Kochkina N.E.* Micromycetes in the connection with problems of biological safety (review). *Problemy meditsinskoy mikologii*. 2011. V. 13 (3). P. 3–12 (in Russ.).
- Park M., Do E., Jung W.H.* Lipolytic enzymes involved in the virulence of human pathogenic fungi. *Mycobiology*. 2013 V. 41 (2). P. 67–72.  
<https://doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.2.67>
- Price M., Wilkinson I.D., Gentry L.O.* Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982. V. 20. P. 7–14.



- Reddy P., Guthridge K., Vassiliadis S. et al. Tremorgenic mycotoxins: structure, diversity and biological activity. *Toxins*. 2019. V. 11 (302). P. 1–26. <https://doi.org/10.3390/toxins11050302>
- Sangeetha A.B., Abdel-hadi A., Hassan A.S. et al. Evaluation of in vitro activities of extracellular enzymes from *Aspergillus species* isolated from corneal ulcer/keratitis. *Saudi J. Biol. Sci.* 2020. V. 27 (2). P. 701–705.
- Satton D., Fotergill A., Rinaldi M. Determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. Mir, Moscow, 2001 (in Russ.).
- Šegvić Klarić M. Adverse effects of combined mycotoxins. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2012. V. 63. P. 519–530. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-63-2012-2299>
- Smirnov V.F., Kuzmin D.A., Smirnova O.N. et al. Action of terpenoids on the physiological and biochemical activity of fungi-destructors of industrial materials. *Khimiya rastitelnogo syrya*. 2002. V.4. P. 29–33 (in Russ.).
- Sobolev A.V., Aak O.V. Clinic, diagnostic and treatment of mycoallergy. *Problemy meditsinskoy mikologii*. 2012. V. 14 (1). P. 37–39 (in Russ.).
- SP 1.3.2322-08. Sanitary and epidemiological rules. “Safety of work with microorganisms of the III–IV groups of pathogenicity (danger) by pathogens of parasitic diseases. 2008.
- Tayeb M.M.S. The relationship between mold sensitization and allergic diseases: a retrospective study (Jeddah, Saudi). *AIMS Allergy and Immunology*. 2020. V. 4 (1). P. 14–19. <https://doi.org/10.3934/Allergy.2020002>
- Vicente V.A., Attili-Angelis D., Pie M. R. et al. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. *Stud. Mycol.* 2008. V. 61. P. 137–144. <https://doi.org/10.3114/sim.2008.61.14>
- Yen Y.C., Yang C.Y., Wang T.N. et al. Household airborne endotoxin associated with asthma and allergy in elementary school-age children: a case-control study in Kaohsiung, Taiwan. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07899-x>
- Zachinyayeva A.V., Moskalev A.V., Andreev V.A. et al. Medical mycology: a guide for doctors. Moscow, Geotar-Media, 2018 (in Russ.).
- Zvyagintsev D.G. Methods of soil microbiology and biochemistry. Moscow, 1991 (in Russ.).
- Бабаева И.Х., Касумова С.Ю., Алиева В.Г. (Babaeva et al.) Активность гидролитических ферментов микромицетов, выделенных из почв и грунтов трассы газопровода Астара–Казимагомед // Научный фонд “Биолог”. 2015. Т. 3. № 7. С. 28–31.
- Безшапочный С.Б., Зачепило С.В., Полянская В.П. и др. (Bezshapochny et al.) Оппортунистические микозы ЛОР-органов. Сообщение 1 // Вестник оториноларингологии. 2018. № 6. С. 67–71. <https://doi.org/10.17116/otorino20188306167>
- Богомолова Е.В., Великова Т.Д., Горяева А.Г. и др. (Bogomolova et al.) Микроскопические грибы в воздушной среде Санкт-Петербурга; под ред. М.А. Бондарцевой. СПб.: Химиздат, 2012. 215 с.
- Богомолова Е.В., Кирицели И.Ю., Миненко Е.А. (Bogomolova et al.) Потенциально опасные микромицеты жилых помещений // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. № 6. С. 506–513.
- Бойченко Т.В. (Boychenko) Опыт применения методов микробной индикации в оценке качества среды хронически загрязненных морских акваторий // Вестник СВФУ. 2019. Т. 2. № 70. С. 5–13.
- Бубнова Е.Н. (Bubnova) Изменения комплексов почвообитающих грибов при переходе от зональных почв к морским экотопам (на примере побережья Кандалакшского залива Белого моря). Дисс... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2005.
- Бубнова Е.Н. (Bubnova) Разнообразие микроскопических грибов в литоральных песках Белого моря // Вестник Московского университета. 2017. Т. 72. № 3. С. 142–148.
- Бубнова Е.Н., Георгиева М.Л., Грум-Гржимайло О.А. (Bubnova et al.) Способ выделения и учета грибов, развивающихся в морских грунтах // Микробиология. 2018. Т. 87. № 6. С. 672–678.
- Бубнова Е.Н., Коновалова О.П. (Bubnova, Konovalova) Разнообразие мицелиальных грибов в грунтах литорали и сублиторали Баренцева моря (окрестности поселка Дальние Зеленцы) // Микология и фитопатология. 2018. Т. 52. № 5. С. 319–327. <https://doi.org/10.1134/S0026364818050021>
- Бубнова Е.Н., Никитин Д.А. (Bubnova, Nikitin) Грибы в донных грунтах Баренцева и Карского морей // Биология моря. 2017. Т. 43. № 5. С. 366–371.
- Гиалогифомикозы // Медицинский портал для врачей и студентов [2007–2019]. [https://doctorspb.ru/articles.php?article\\_id=172](https://doctorspb.ru/articles.php?article_id=172). Дата обращения: 17.05.2020.
- Госманов Р.Г., Галиуллин А.К., Нургалеев Ф.М. (Gosmanov et al.) Микология и микотоксикология. СПб.: Лань, 2019. 168 с.
- ГОСТ 31861–2012 Межгосударственный стандарт. Вода. Общие требования к отбору проб. 2012.
- Гудков А.Б., Попова О.Н. (Gudkov, Popova) Пульмонопатогенные факторы Европейского Севера (обзор) // Вестник Поморского университета. 2008. № 2. С. 15–22.
- Евдокимова Г.А. (Evdokimova) Почвенная микробиота как фактор устойчивости почв к загрязнению // Теоретические проблемы экологии. 2014. № 2. С. 17–24.
- Евдокимова Г.А., Корнейкова М.В., Мозгова Н.П. и др. (Evdokimova et al.) Эколого-биологическая характеристика почв приграничного района Россия – Норвегия // Вестник Кольского научного центра РАН. 2016. Т. 1. № 24. С. 89–99.
- Егорова Л.Н. (Egorova) Почвенные грибы Дальнего Востока. Гиалогифомикозы. Ленинград, Наука, 1986. 192 с.
- Елинов Н.П., Васильева Н.В., Маматьева А.А. и др. (Elinov et al.) Патогенные и условно-патогенные макро- и микромицеты как объекты царства грибов (Fungi), их характеристика с учетом требований международного кодекса ботанической номенклатуры. Учебное пособие. Выпуск 1. Под ред. Н.П. Елинова СПб.: Коста, 2011. 64 с.

- Зачиняева А.В., Москалев А.В., Андреев В.А. и др.* (Zachinyayeva et al.) Медицинская микология: руководство для врачей. М.: Гэотар-Медиа, 2018. 288 с.
- Звягинцев Д.Г.* (Zvyagintsev) Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. пособие / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Крыленков А.В. и др.* (Kirtsideli et al.) Аэромикота в районах расположения арктических станций России в акваториях Белого, Баренцева и Карского морей // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. № 3. С. 228–239.
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П. и др.* (Kirtsideli et al.) Распространение терригенных микромицетов в водах Арктических морей // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. № 5. С. 306–310.
- Кирицели И.Ю.* (Kirtsideli) Микроскопические грибы в почвах и грунтах / Под ред. Н.В. Матвеевой. Растения и грибы полярных пустынь Северного полушария. СПб., Марафон, 2015. С. 242–272.
- Кирицели И.Ю., Абакумов Е.В., Тешебаев Ш.Б. и др.* (Kirtsideli et al.) Микробные сообщества в районах арктических поселений // Гигиена и санитария. 2016. Т. 95. № 10. С. 923–929. <https://doi.org/10.1882/0016-9900-2016-10-923-929>
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Крыленков В.А. и др.* (Kirtsideli et al.) Сравнительное исследование аэромикоты арктических станций по Северному морскому пути // Экология человека. 2018. № 4. С. 16–21.
- Кирицели И.Ю.* (Kirtsideli) Микроскопические грибы в экосистемах Арктики и Антарктики: дис. ... докт. биол. наук. СПб., 2019. 459 с.
- Корнейкова М.В.* (Korneykova) Вирулентность потенциально патогенных микромицетов, выделенных из почв Кольского полуострова // Успехи медицинской микологии. 2016. № 15. С. 26–32.
- Корнейкова М.В., Евдокимова Г.А., Лебедева Е.В.* (Korneykova et al.) Комплексы микроскопических грибов в загрязненных нефтепродуктами агроземах Кольского полуострова // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. № 3. С. 249–256.
- Корнейкова М.В., Лебедева Е.В.* (Korneykova, Lebedeva) Микобиота приземного воздуха различных природных и промышленных зон Мурманской области // Микология и фитопатология. 2017. Т. 51. № 4. С. 202–210.
- Крылова И.О., Баландина С.Ю., Четина О.А.* (Krylova et al.) Комплексный анализ плесневых микромицетов жилых казарменных помещений // Вестник Пермского университета. 2019. № 2. С. 167–174.
- Кузикова И.Л., Медведева Н.Г., Сухаревич В.И.* (Kuzikova et al.) Изучение факторов потенциальной патогенности грибов-контаминантов фондов Библиотеки Академии наук // Труды лаборатории консервации и реставрации документов СПФ АРАН. 2011. № 2. С. 237–245.
- Кузикова С.И., Тилева Е.А., Трошева Е.Д. и др.* (Kuzikova et al.) Потенциальная патогенность микромицетов – контаминантов библиотечных фондов // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. № 5. С. 229–333.
- Кулько А.Б.* (Kulko) Спектр возбудителей глубоких микозов человека // Онкогематология. 2012. № 3. С. 55–61.
- Кураков А.В.* (Kurakov) Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем. М.: Макс Пресс, 2001. 92 с.
- Марфенина О.Е.* (Marfenina) Опасные плесени в окружающей среде // Природа. 2002. № 11. С. 33–38.
- Марфенина О.Е., Фомичева Г.М.* (Marfenina, Fomicheva) Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Современные тенденции / Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева // Микология сегодня. Т. 1. М.: Национальная академия микологии, 2007. С. 235–266.
- Мосина Л.В., Довлетярова Э.А., Ефремова С.Ю.* (Mosina et al.) Микотоксины как экологическая опасность. Иркутск: Мегапринт, 2017. 144 с.
- Немировская И.А.* (Nemirovskaya) Нефть в океане (загрязнение и природные потоки). М.: Научный мир, 2013. 432 с.
- Озерская С.М., Иванушкина Г.А., Кочкина Н.Е.* (Ozerskaya et al.) Таксономическое разнообразие патогенных грибов // Микология сегодня. Т. 1. 2007. С. 268–282.
- Озерская С.М., Иванушкина Г.А., Кочкина Н.Е.* (Ozerskaya et al.) Микроскопические грибы в связи с проблемами биологической безопасности (обзор) // Проблемы медицинской микологии. 2011. Т. 13. № 3. С. 3–12.
- Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М.* (Satton et al.) Определитель патогенных и условно патогенных грибов: пер. с англ. М.: Мир, 2001. 486 с.
- Смирнов В.Ф., Кузьмин Д.А., Смирнова О.Н. и др.* (Smirnov et al.) Действие терпеноидов на физиолого-биохимическую активность грибов-деструкторов промышленных материалов // Химия растительного сырья. 2002. № 4. С. 29–33.
- Соболев А.В., Аак О.В.* (Sobolev, Aak) Клиника, диагностика и лечение микогенной аллергии // Проблемы медицинской микологии. 2012. Т. 14. № 1. С. 37–39.
- СП 1.3.2322-08. Санитарно-эпидемиологические правила. “Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) возбудителями паразитарных болезней”. М., 2008. 54 с.
- Филькин С.Ю., Липкин А.В., Федоров А.Н.* (Filkin et al.) Суперсемейство фосфолипаз: структура, функции и применение в биотехнологии // Успехи биологической химии. 2020. № 60. С. 369–410.
- Хмельницкий О.К., Быков В.Л., Хмельницкая Н.М.* (Khmelnitskiy et al.) Патоморфологическая диагностика микозов, вызываемых условно-патогенными грибами: пособие для врачей. СПб., 2000. 35 с.

## Opportunistic Fungi of Coastal Territories of the Kola Bay of the Barents Sea

E. A. Isakova<sup>a, b, #</sup> and M. V. Korneykova<sup>b, c, ##</sup>

<sup>a</sup> Kola Science Centre of Russian Academy of Science, Apatity, Russia

<sup>b</sup> Institute of North Industrial Ecology Problems, Apatity, Russia

<sup>c</sup> Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>#</sup> e-mail: ya.kristina-i2014@yandex.ru

<sup>##</sup> e-mail: korneykova.maria@mail.ru

Data on species diversity of microscopic fungi isolated from the coastal territories substrates of the Kola Bay of the Barents Sea and their potential pathogenicity are presented. Among the 34 species of micromycetes belonging to the genera *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Isaria*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Purpureocillium* of the *Ascomycota* division, 23 species were found in the Belokamenka and 25 species – in the Kola settlement. Common were 14 species of microscopic fungi belonging to the genera *Acremonium*, *Aspergillus*, *Isaria*, *Trichoderma*, *Penicillium*. Twenty four species (71% of total amount of isolated species) belonged to the group of potentially pathogenic fungi. 21% of the fungi species from them dominated in abundance in Belokamenka: *Acremonium charticola*, *Isaria farinosa*, *Penicillium aurantiogriseum* st. 1, *P. simplicissimum* st. 1, *Talaromyces purpureogenus*, *Trichoderma viride* st. 1. In the Kola settlement, 15% of the species of potentially pathogenic fungi were dominant: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium decumbens*, *P. spinulosum* st. 1, *P. aurantiogriseum* st. 1., *Trichoderma viride* st. 2. According to the results of evaluating the protease and phospholipase activity of fungi and growth ability at 37°C, seven strains had three pathogenicity factors. *Aspergillus flavus* st. 1, *A. flavus* st. 2, *A. niger*, *Talaromyces purpureogenus*, *P. glabrum*, *P. simplicissimum* st. 2, *Isaria farinosa*. In the harsh climatic conditions of the North, these species can pose a potential threat to human health such as invasions at the cellular and tissue level.

**Keywords:** biological safety, coastal territories, exoenzymatic activity, opportunistic fungi, potential pathogenicity, species diversity of micromycetes

БИОРАЗНООБРАЗИЕ,  
СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 631.466.1 : 574.47 : 582.28 : 571.64

РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ДРЕВЕСИНЕ  
В БЕРЕГОВОЙ ЗОНЕ ГРЕНЛАНДСКОГО МОРЯ  
(АРХИПЕЛАГ ШПИЦБЕРГЕН)

© 2021 г. И. Ю. Кирцидели<sup>1,\*</sup>, Е. Г. Лукина<sup>2,\*\*</sup>, В. А. Ильюшин<sup>1,\*\*\*</sup>, Д. Ю. Власов<sup>1,2,\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup> Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: microfungi@mail.ru

\*\*e-mail: elizaveta121999@mail.ru

\*\*\*e-mail: ilva94@yandex.ru

\*\*\*\*e-mail: dmitry.vlasov@mail.ru

Поступила в редакцию 29.11.2020 г.

После доработки 07.12.2020 г.

Принята к публикации 21.12.2020 г.

Материалом для исследования послужили 59 образцов древесины, которые были собраны в период 2018–2019 гг. в прибрежной зоне Грюн-фьорда Гренландского моря (архипелаг Шпицберген). Древесина была принесена морем (плáвник) и находилась на берегу залива на разном удалении от линии воды. В результате исследований выявлены комплексы микроскопических грибов на плавнике (ель, сосна, лиственница и осина), которые могут формироваться при нахождении древесины в морской воде, а также за счет видов из прибрежной зоны арктических морей. Идентифицировано 65 видов микроскопических грибов, преимущественно из отдела *Ascomycota*. Виды рода *Cadophora* отмечены в наибольшем числе исследованных образцов. Показатели видового разнообразия и встречаемости представителей отдела *Basidiomycota* оказались сравнительно низкими. Всего на образцах древесины с отсутствием внешних признаков деструкции было отмечено 50 видов, а на образцах древесины с признаками разрушения – 36 видов микромицетов. Разрушение структуры древесины сопровождается снижением видового разнообразия и увеличением встречаемости почвенных грибов, типичных для природной среды Арктики, в частности, *Pseudogymnoascus pannorum* и видов рода *Penicillium*.

**Ключевые слова:** Арктика, арктические моря, вторично-водные грибы, древесина, микробные сообщества, микроскопические грибы, плáвник

**DOI:** 10.31857/S0026364821030053

## ВВЕДЕНИЕ

Микромицеты северных морей рассматриваются как экологически неоднородная группа организмов (Rämä et al., 2014). Температура и соленость воды – два основных экологических фактора, влияющих на распространение водных грибов в глобальном масштабе (Hughes, 1986). Микромицеты могут входить в пищевые цепи Мирового океана, являться паразитами на водорослях и животных, сапротрофами и биодеструкторами природных и антропогенных материалов, находящихся в воде (Jones, 2011). Для характеристики некоторых грибов, отмеченных в морской воде, использовали термины “факультативные морские грибы” (Kohlmeyer, 1974), “вторично-водные грибы” (Pivkin, 2010), “терригенные грибы” (Terekhova, 2007). Экология этих грибов обсуждается достаточно давно (Spragow, 1937; Johnson, 1967). Од-

нако гораздо больше внимания микологи уделяли истинным морским грибам, представления о которых формировались на основе культурально-морфологических характеристик и молекулярных данных (Rämä et al., 2014, 2017).

Морфологическая и метаболическая пластичность позволяет грибам адаптироваться к различным экологическим условиям и развиваться как в наземной, так и в водной среде (Slepecky, Starmer, 2009; Wittenberg et al., 2009). Было показано, что переход к морскому существованию и выход на сушу происходят сравнительно часто (Richards et al., 2012). В водах Белого, Баренцева и Карского морей, а также моря Лаптевых было выделено 36 видов из 17 родов микромицетов (Kirtsideli et al., 2012). При этом у береговой линии было выявлено 29 видов, а в открытом море 20 видов грибов, т.е. при удалении от суши число видов падает, что мо-

жет служить доказательством наземного происхождения большинства полученных изолятов. В этой связи особый интерес представляет изучение микобиоты древесины, которая может длительное время находиться в морской среде, а затем оказывается на суше. Хорошо известно, что древесина представляет собой привлекательный субстрат для различных групп грибов. Это особенно актуально для полярных регионов, характеризующихся бедностью субстратов и суровостью окружающей среды, что может существенно ограничивать расселение микромицетов в полярных экосистемах. В некоторых работах говорится об особенностях микобиоты древесины в арктических регионах (Pang et al., 2011, 2016; Hagestad et al., 2020). В таких условиях привнесенная морем древесина (плавник) может служить одним из возможных доступных мест обитания и накопления грибов в прибрежной зоне арктических морей. В исследовании Hellmann et al. (2013) показано, что почти половина плавника арктических морей представляет собой древесину лесозаготовительных работ. Очевидно, что главным источником попадания древесины в моря Северного Ледовитого океана является ее вынос сибирскими реками из мест лесозаготовки (Johansen, Hyyteborn, 2001). Однако до настоящего времени этот вопрос остается недостаточно исследованным.

Целью нашего исследования было изучение видового разнообразия микроскопических грибов на привнесенном морем древесном субстрате в береговой зоне Грюн-фьорда Гренландского моря (архипелаг Шпицберген).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Образцы древесины для микологического анализа отбирали в прибрежной зоне Грюн-фьорда Гренландского моря (архипелаг Шпицберген) в р-не жилого поселка Баренцбург (78°02' с.ш., 14°18' в.д.) и заброшенного поселения Грумант (78°10' с.ш., 15°06' в.д.) в июне–июле 2018–2019 гг. На исследуемой территории соленость воды составляет 34‰, а средняя годовая температура морской воды – 2°C (Marchenko et al., 2019). Архипелаг Шпицберген относится к зоне тундр и полярных пустынь (Aleksandrova, 1977), а древесина на данной территории может иметь антропогенное происхождение или являться плавником (привнесена морем). В исследование были включены только образцы плавника, которые имели признаки недавнего пребывания в морской воде (наличие морских водорослей и животных). Фрагменты древесины собирали в стерильные контейнеры и хранили при температуре 4°C. Размер одного образца, как правило, составлял 10–20 см<sup>3</sup>.

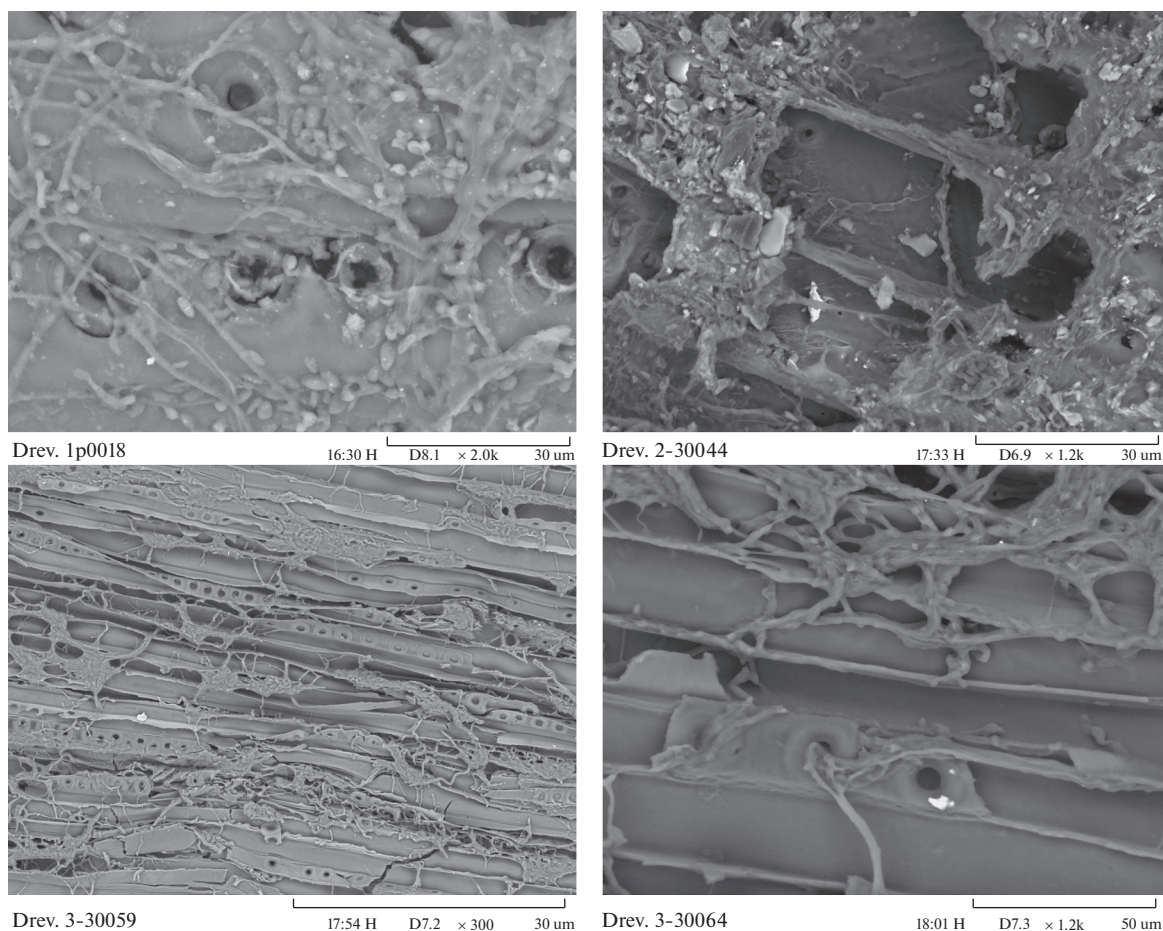
Определение пород древесины проводилось в секторе химико-биологических исследований Го-

сударственного Русского музея с.н.с. Н.Г. Соловьевой на основе анализа микроструктурных признаков внутреннего строения древесины (Yatsenko-Khmelevsky, 1954; Kolosova, Solovieva, 2013).

Каждый образец был разделен на несколько мелких фрагментов, которые были помещены на поверхность питательной среды (прямой посев). Использовали следующие питательные среды: агар Чапека, агар Чапека с добавлением NaCl (5%), агаризованная минеральная среда с целлюлозой. Для подавления роста бактерий использовали антибиотик левомецетин (25 мг/л). Инкубацию полученных изолятов проводили в темноте при температуре 4–5 и 20°C. Чистые культуры были идентифицированы на основании культурально-морфологических признаков (Methods..., 1982; Raper, Thom, 1949; Domsch et al., 2007, и др.) и результатов молекулярных исследований. Культуры, используемые для молекулярных исследований, выращивали на среде Чапека при 20°C в течение 14 дней. ДНК из чистых культур грибов выделяли с использованием коммерческого набора DiamondDNA Plant kit (АВТ, Барнаул, Россия), согласно инструкции изготовителя. В качестве филогенетического маркера была использована последовательность региона ITS (White et al., 1990). Последовательности ITS1–5.8S–ITS2 амплифицировали с использованием праймеров ITS1 (5'-TCC-GTA-GGT-GAA-CCT-TGC-GG-3') и ITS4 (5'-TCC-TCC-GCT-TAT-TGA-TAT-GC-3'). По окончании амплификации проводили детекцию образцов электрофоретическим методом в 1.5%-м агарозном геле с GelRed. Секвенирование полученных фрагментов ДНК проводили в BioBeagle (Санкт-Петербург, Россия) методом Сэнгера. Последовательности были проверены и выровнены с использованием программы BioEdit версии 7.1.9. Анализировали данные с помощью программы поиска Blast в GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для универсального региона ITS были выбраны критерии идентичности, предложенные Годинье с соавторами (Godinho et al., 2013). Если идентичность последовательности региона ITS составляла ≥98%, то считали, что изолят принадлежит данному виду, если идентичность последовательности составляла 95–97%, считали, что изолят принадлежит соответствующему роду.

Названия и положение таксонов микроскопических грибов унифицировали с использованием базы данных Index Fungorum (2020).

Образцы древесины просматривали в сканирующем электронном микроскопе Tescan MIRA3 LMU в ресурсном центре “Развитие молекулярных и клеточных технологий” СПбГУ, а также в настольном растровом электронном микроскопе



**Рис. 1.** Развитие микроскопических грибов на поверхности и в глубинных слоях древесины.

TM 3000 HITACHI в “Ресурсном центре микроскопии и микроанализа” СПбГУ.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета статистических программ EstimateS9.10 (Colwell, 2014), MS Excel 2007 и Statistica 10.0.

Для оценки ожидаемого числа видов в области исследования мы использовали подход, основанный на алгоритме генерации выборки (Colwell et al., 2012). В основе этого подхода лежит конструирование кривой разрежения (rarefaction curve) с помощью специального алгоритма случайной многократной перестановки данных в пределах выборок из числа обнаруженных изолятов. Данная кривая является функцией математического ожидания видовой насыщенности  $S(N)$  при увеличении численности сообщества. Разрежение дает возможность найти предполагаемое число видов для любой промежуточной совокупности из  $N$  особей, считая ее случайной и независимой выборкой из всей генеральной совокупности. Эмпирические данные о числе видов при построении

этой кривой сглаживаются параметрической модельной зависимостью с последующей экстраполяцией к некоторой асимптоте “насыщения” (Shitikov et al., 2011).

Для расчета ожидаемого числа видов в генеральной совокупности, из которой была сделана выборка, использовался скорректированный индекс Chao1 (индекс с поправкой на смещение), который рассчитывался на основе регистрации количества видов, представленных одним изолятом. Для этого расчета использовалась некоммерческая программа EstimateS 9.10 (Colwell et al., 2012).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате культурально-морфологических исследований было получено более 400 чистых культур микроскопических грибов и идентифицировано 65 видов микромицетов. Использование метода сканирующей микроскопии показало, что развитие микроскопических грибов активно происходит как на поверхности, так и в глубинных слоях древесины (рис. 1). Отмечен рост мицелия



между сохранившимися волокнами целлюлозы. На поверхности древесины локально формируется спороношение микромицетов.

Отдел *Mucoromycota* представлен только двумя видами (*Mortierella parvispora* и *Mucor hiemalis*), которые были отмечены единичными находками и не развивались на средах с целлюлозой в качестве единственного источника органического вещества.

Отдел *Basidiomycota* оказался представлен только семью видами грибов (*Dioszegia hungarica*, *Goffeazyma gilvescens*, *Leucosporidium scottii*, *Mrakia frigida*, *Rhodotorula* sp., *Tremella indecorata*, *Vishniacozyma victoriae*), что согласуется с литературными данными о встречаемости базидиомицетов в полярных экосистемах (Tosi et al., 2002; Connell et al., 2006; Malosso et al., 2006; Ludley, Robinson, 2008; Blanchette et al., 2010; Arenz, Blanchette, 2011; Arenz et al., 2014). Авторы отмечали, что чаще всего в таких условиях выявляются дрожжевые грибы базидиомицетного аффинитета. Хотя привнесенная морем древесина могла быть заселена ксилотрофными базидиомицетами, обитающими в бореальных лесах, эти грибы не были обнаружены на плавнике в наших исследованиях. Вероятно, в период нахождения древесины в морской воде и прибрежной зоне архипелага Шпицберген происходит заселение данного субстрата преимущественно вторично-водными и почвенными микроскопическими грибами. Водная (морская) среда и экстремальные условия Арктики, по-видимому, ограничивают рост ксилотрофных грибов, способных колонизировать и разлагать древесину. На их место приходят сумчатые грибы, о чем свидетельствуют полученные данные (табл. 1).

Большинство выделенных нами видов относятся к отделу *Ascomycota* (56 видов). Наиболее высокой была доля микромицетов из родов *Cadophora*, *Pseudogymnoascus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Phoma* и *Didymella*. В образцах древесины с признаками деструкции и без таковых были встречены как облигатно водные (например, *Tricellula aquatica*), так и вторично-водные микроскопические грибы. Наиболее часто встречались представители рода *Cadophora* (5 видов), которые преобладали на древесине, не имеющей следов деструкции. Виды этого рода ранее отмечались на древесине в Гренландии и Исландии (Blanchette et al., 2016), в канадской Арктике на мумифицированной древесине, на плавнике, а также на исторической антропогенной древесине в других районах Арктики (Jurgens et al., 2009; Rämä et al., 2014). Виды рода *Cadophora* также широко распространены в почве и на растительных субстратах в арктических экосистемах (Kirtsideli et al., 2014; Zhang, Yao, 2015), хотя также являются и фитопатогенами (Martín-Sanz et al., 2018). Они были отмечены как

доминанты на антропогенной древесине в исторических хижинах, построенных Скоттом и Шеклтоном в р-не моря Росса в Антарктиде (Blanchette et al., 2004, 2010). Показано, что грибы рода *Cadophora* широко встречаются в почвах в р-не моря Росса, а также распространены на изученных территориях Антарктического п-ова (Arenz, Blanchette, 2009, 2011; Blanchette et al., 2010; Kirtsideli et al., 2018). Они также были обнаружены в пресноводных антарктических озерах (Goncalves et al., 2012). Накопленные данные указывают на то, что грибы рода *Cadophora* могут рассматриваться как аборигенные виды полярных регионов, которые способны колонизировать различные субстраты и переносить экстремальные условия окружающей среды.

Наибольшим числом видов представлен род *Penicillium* (14 видов), а наибольшим числом изолятов характеризовался вид *Penicillium lanosum*. Число изолятов грибов из рода *Penicillium* заметно увеличивалось в образцах древесины, находящихся в стадии разложения (с разрушенной структурой древесины). В таких пробах также постоянно присутствовал аскомицет *Pseudogymnoascus pannorum*, который, как и виды рода *Penicillium*, относится к типичным обитателям почв в зоне арктических тундр (Kirtsideli et al., 2014, 2018).

Род *Cladosporium* был представлен шестью видами. В их числе оказались такие виды, как *Cladosporium tenellum* и *Cladosporium sinuosum*, которые ранее были выделены из образцов льда в Северном Ледовитом океане в 2007 г. (Schubert et al., 2007). Виды этого рода отмечались преимущественно на образцах древесины, не имеющих следов деструкции. Виды рода *Alternaria* были отмечены исключительно на образцах древесины, не имеющих следов заметной деструкции. Распределение основных групп микроскопических грибов представлено на рис. 2.

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоком разнообразии и встречаемости видов рода *Alternaria*, *Cadophora*, *Cladosporium* на образцах древесины с отсутствием внешних признаков деструкции. На древесине с признаками разрушения отмечено увеличение встречаемости *Pseudogymnoascus pannorum* и видов рода *Penicillium*, т.е. видов, типичных для почв данного региона. Всего на образцах древесины с отсутствием внешних признаков деструкции было отмечено 49 видов, а на образцах с разрушенной структурой древесины – 36 видов. Общими оказались 20 видов грибов (табл. 2).

По максимальному среднему значению индекса  $Chao_1$ , рассчитанному для кривой накопления видов (рис. 3), нами выявлены практически все ожидаемые виды, обитающие на древесине с отсутствием признаков деструкции ( $I$ ) ( $Chao_1 = 50.5 \pm$

Таблица 1. Видовой состав микромицетов, выделенных из образцов древесины

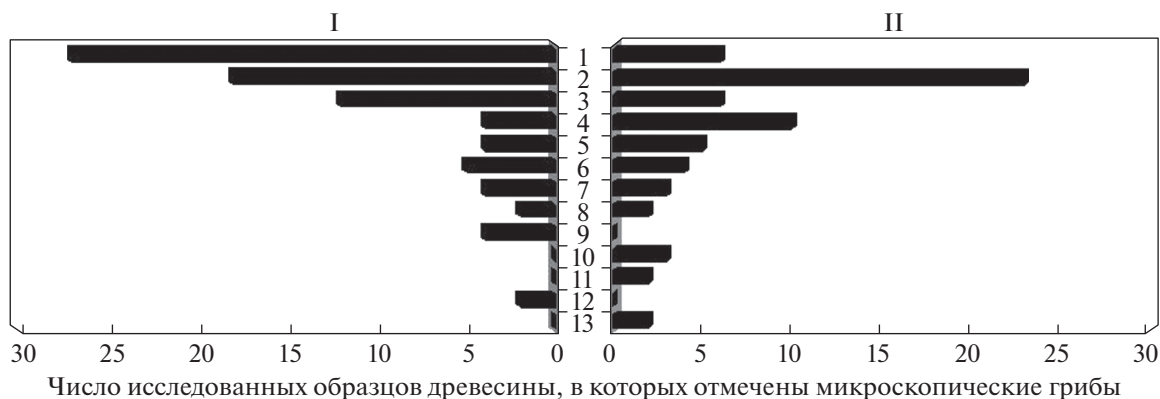
Виды грибов	Номер штамма в Генбанке	Год отбора образца	*Деструкция древесины	**Место отбора образца	***Порода дерева
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams		2018	–	Б	–
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl		2019	+	Б	С, О
<i>A. tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire		2019	+	Б	С
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	MW204929, MW204938, MW201486	2018, 2019	±	Б, Г	С
<i>Cadophora fastigiata</i> Lagerb. et Melin		2018, 2019	±	Б	С, Е, О
<i>C. luteo-olivacea</i> (J.F.H. Beyma) T.C. Harr. et McNew		2019	±	Б	О
<i>C. malorum</i> (Kidd et Beaumont) W. Gams		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>C. melinii</i> Nannf.		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>Cadophora</i> sp.		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>Chrysosporium merdarium</i> (Ehrenb.) J.W. Carmich		2018	–	Б	–
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>C. herbarum</i> (Pers.) Link		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>C. oxysporum</i> Berk. et M.A. Curtis		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е, Л
<i>C. sinuosum</i> K. Schub., C.F. Hill, Crous et U. Braun	MW201488	2019	+	Б	Е
<i>C. sphaerospermum</i> Penz.		2019	±	Б	С
<i>C. tenellum</i> K. Schub., C.F. Hill, Crous et U. Braun,	MW201487	2019	+	Б	С
<i>Claussenomyces atrovirens</i> (Pers.) Korf et Abawi	MW204926	2018	–	Г	–
<i>Cordyceps farinosa</i> (Holmsk.) Kepler, B. Shrestha et Spatafora		2018	–	Г	–
<i>Cosmospora berkeleyana</i> (P. Karst.) Gräfenhan, Seifert et Schroers		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>Didymella pomorum</i> (Thüm.) Qian Chen et L. Cai		2019	+	Б	Е
<i>Dioszegia hungarica</i> Zsolt	MW201503	2019	+	Б	С
<i>Exophiala xenobiotica</i> de Hoog, J.S. Zeng, Harrak et Deanna A. Sutton	MW204928, MW201501, MW201483	2018, 2019	±	Б, Г	С, Е
<i>Ilyonectria destructans</i> (Zinssm.) Rossman, L. Lombard et Crous		2019	+	Б	Л
<i>Juxtiphoma eupyrena</i> (Sacc.) Valenz.-Lopez, Crous, Stchigel, Guarro et Cano		2019	+	Б	Е
<i>Goffeauzyma gilvescens</i> (Chernov et Babeva) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. et Boekhout	MW201493	2019	+	Б	С
<i>Kabatiella</i> sp.	MW201495	2019	+	Б	Е
<i>Leptosphaeria doliolum</i> (Pers.) Ces. et De Not.	MW201489	2019	+	Б	Е
<i>L. sclerotoides</i> (Preuss ex Sacc.) Gruyter, Aveskamp et Verkley	MW201497, MW201504	2019	+	Б	Л, Е
<i>Leucosporidium scottii</i> Fell, Statzell, I.L. Hunter et Phaff	MW204930	2018	–	Б	–
<i>Lophium arboricola</i> (Buczacki) Madrid et Gené	MW201485, MW201496	2019	+	Б	Е, С
<i>Microdochium lycopodium</i> (Jaklitsch, Siepe et Voglmayr) Hern.-Restr. et Crous,	MW201491, MW201492	2019	+	Б	С
<i>Mortierella parvispora</i> Linnem	MW204932	2018	–	Б	–
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer		2018	–	Б	–



Таблица 1. Окончание

Виды грибов	Номер штамма в Генбанке	Год отбора образца	*Деструкция древесины	**Место отбора образца	***Порода дерева
<i>Mrakia frigida</i> (Fell, Statzell, I.L. Hunter et Phaff) Y. Yamada et Komag.	MW201502	2019	+	Б	С
<i>Nectria ramulariae</i> (Wollenw.) E. Müll	MW204936, MW201505	2018, 2019	±	Б	С
<i>Neocosmospora solani</i> (Mart.) L. Lombard et Crous		2019	+	Б	С
<i>Paraphoma fimeti</i> (Brunaud) Gruyter, Aveskamp et Verkley	MW201498	2019	+	Б	С, О
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx		2018	–	Б	–
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx		2019	+	Б	Л
<i>P. camemberti</i> Thom		2018	–	Б	–
<i>P. chrysogenum</i> Thom		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е, Л
<i>P. commune</i> Thom	MW204937	2018	–	Б	–
<i>P. jensenii</i> K.W. Zaleski		2018, 2019	±	Б, Г	Е
<i>P. lanosum</i> Westling		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е, Л
<i>P. miczynskii</i> K.W. Zaleski		2019	+	Б	С
<i>P. nalgiovense</i> Laxa		2019	+	Б	Е
<i>P. olsonii</i> Bainier et Sartory		2019	+	Б	С
<i>P. roqueforti</i> Thom		2018	–	Б	–
<i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е, Л
<i>P. solitum</i> Westling		2018, 2019	±	Б, Г	Е, О
<i>P. waksmanii</i> K.W. Zaleski		2019	+	Б	С
<i>Phialocephala dimorphospora</i> W.B. Kendr.	MW204931	2018	–	Б	–
<i>Phoma herbarum</i> Westend	MW204933, MW201494	2018, 2019	±	Б, Г	Е
<i>Pleosporales</i>	MW204935	2018	–	Б	–
<i>Pochonia</i> sp.	MW204934	2018	–	Б	–
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis et D.L. Lindner		2018, 2019	±	Б, Г	С, Е, Л
<i>Rhodotorula</i> sp.		2018	–	Б	–
<i>Talaromyces funiculosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert		2018	–	Б	–
<i>T. piceae</i> (Raper et Fennell) Samson, N. Yilmaz, Hou- braken, Spierenb., Seifert, Peterson, Varga et Frisvad		2019	+	Б	С
<i>T. rugulosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert		2019	+	Б	С, Е, Л
<i>T. verruculosus</i> (Peyronel) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert		2019	+	Б	Л
<i>Tremella indecorata</i> Sommerf.	MW201499, MW204927	2018, 2019	±	Б	Л
<i>Tricellula aquatica</i> J. Webster	MW201484	2019	+	Б	С
<i>Variabilispora flava</i> S. Bien, C. Kraus et Damm	MW201500	2019	+	Б	Е
<i>Vishniacozyma victoriae</i> (M.J. Montes, Belloch, Galiana, M.D. García, C. Andrés, S. Ferrer, Torr.-Rodr. et J. Guinea) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. et Boekhout	MW201490	2019	+	Б	С

Примечание. \*Деструкция древесины: “+” – отсутствие внешних признаков деструкции; “–” – разрушенная структура древесины. \*\*Место отбора образца: Б – р-н пос. Баренцбург; Г – р-н пос. Грумант. \*\*\*Порода дерева: С – сосна; Е – ель; Л – лиственница; О – осина; “–” – порода не определена.



**Рис. 2.** График рангового распределения микроскопических грибов в изученных образцах древесины при отсутствии признаков деструкции (I) и с признаками деструкции (II). По горизонтали – число образцов древесины, в которых выявлены микромицеты. По вертикали ранжированы микроскопические грибы: 1 – *Cadophora* spp.; 2 – *Penicillium* spp.; 3 – *Cladosporium* spp.; 4 – *Pseudogymnoascus pannorum*; 5 – *Exophiala xenobiotica*; 6 – *Talaromyces* spp.; 7 – *Cosmospora berkeleyana*; 8 – *Phoma* spp.; 9 – *Alternaria* spp.; 10 – *Nectria ramulariae*; 11 – *Acremonium charticola*; 12 – *Neocosmospora solani*; 13 – *Leucosporidium scottii*.

$\pm 1.03$ ; 50 видов). В меньшей степени выявлен видовой состав грибов для группы образцов с разрушенной структурой древесины (II) ( $\text{Chao } 1 = 38.99 \pm 3.4$ ; 36 видов).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

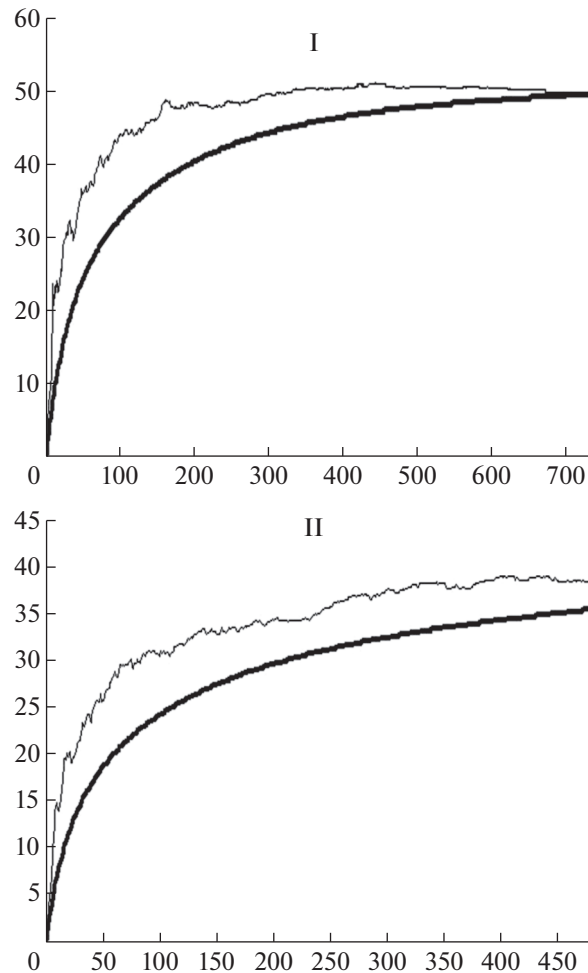
Полученные данные свидетельствуют о том, что формирование комплексов микромицетов древесины, привнесенной в арктические экосистемы по морю, является длительным сукцессионным процессом. Можно предположить, что в процессе переноса плавника морскими водами от бореальной зоны (где производится лесозаготовка) до арктических морей, омывающих архипелаг Шпицберген, происходит последовательное снижение встречаемости базидиомицетов, типичных

для древесины бореальной зоны, и заселение древесины вторично-водными и водными микроскопическими грибами (преимущественно аскомицетами). В дальнейшем в комплексах микромицетов может происходить увеличение доли видов, типичных для почв Арктики. Культурально-морфологические методы позволяют оценить разнообразие и встречаемость микромицетов на древесном субстрате, однако молекулярные методы идентификации помогают уточнить видовой состав грибов и выявить истинное разнообразие микромицетов, населяющих морскую древесину. Разложение древесины влияет на структуру сообществ микромицетов на данном субстрате. Разрушение структуры древесины сопровождается снижением видового разнообразия и увеличением встречаемости почвенных грибов, типичных для

**Таблица 2.** Распределение микромицетов по изученным образцам древесины

Число образцов/видов	Год отбора проб		***Порода древесины				*Деструкция древесины		**Место отбора проб	
	2018	2019	С	Е	Л	О	+	–	Б	Г
Число образцов	32	27	15	7	5	2	29	30	47	12
Число видов	39	49	33	25	9	5	50	36	63	18

Примечание. \*Деструкция древесины: “+” – отсутствие признаков деструкции; “–” – разрушенная структура древесины. \*\*Место отбора проб: Б – р-н пос. Баренцбург, Г – р-н пос. Грумант. \*\*\*Порода древесины (определялась только для образцов, не имеющих признаков деструкции): С – сосна; Е – ель; Л – лиственница; О – осина.



**Рис. 3.** Результаты бутстреп-анализа для оценки полноты выявления видов в зависимости от числа полученных изолятов. Тонкие линии показывают средние значения индекса Chao1 (ожидаемое число видов) по мере увеличения числа изолятов, сплошные линии – сглаженные кривые разрежения (individual-based rarefaction curves) в зависимости от числа выявленных изолятов. Условные обозначения: I – группа образцов древесины с отсутствием внешних признаков деградации; II – группа образцов с разрушенной структурой древесины (по горизонтали – число изолятов, по вертикали – число видов).

природной среды Арктики. Можно предположить, что значительная часть привнесенных с древесиной микромицетов способна сохранять жизнеспособность и переходить в почвы прибрежных арктических территорий (Kirtsideli et al., 2012). Вероятно, часть из них может переходить на деловую древесину в арктических поселениях, вызывая ее биодеструкцию.

Работа выполнялась в рамках госзадания согласно тематическому плану БИН РАН по теме № АААА-А19-119020890079-6, часть работы выполнена на оборудовании ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург). Исследования проводились при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-05031мк).

Авторы благодарят Н.Г. Соловьеву за проведение работ по определению пород древесины и М.С. Зеленскую за помощь в проведении сканирующей микроскопии. Благодарим руководителя Российской научной арктической экспедиции на архипелаг Шпицберген Ю.В. Угрюмова, а также сотрудников Российского научного центра на Шпицбергене за содействие в проведении исследований.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Alexandrova V.D.* Geobotanical zoning of the Arctic and Antarctic. Nauka, Leningrad, 1977 (in Russ.).
- Arenz B.E., Blanchette R.A.* Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea region and McMurdo dry valleys. *Soil Biol. Bio-*

- chem. 2011. V. 43. P. 308–315.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.10.016>
- Arenz B.E., Blanchette R.A.* Investigations of fungal diversity in wooden structures and soils at historic sites on the Antarctic Peninsula. *Can. J. Microbiol.* 2009. V. 55. P. 46–56.  
<https://doi.org/10.1139/W08-120>
- Arenz B.E., Blanchette R.A., Farrell R.L.* Fungal diversity in Antarctic soils. In: *D. Cowan* (ed.), *Antarctic terrestrial microbiology: Physical and biological properties of Antarctic soils*. Springer, Berlin, 2014, pp. 35–53.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-642-45213-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-45213-0_3)
- Blanchette R.A., Held B.W., Arenz B.E. et al.* An Antarctic hot spot for fungi at Shackleton's historic hut on Cape Royds. *Microb. Ecol.* 2010. V. 60. P. 29–38.  
<https://doi.org/10.1007/s00248-010-9664-z>
- Blanchette R.A., Held B.W., Hellmann L. et al.* Arctic driftwood reveals unexpectedly rich fungal diversity. *Fungal Ecol.* 2016. V. 23. P. 58–65.  
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.06.001>
- Blanchette R.A., Held B.W., Jurgens J.A. et al.* Wood destroying soft rot fungi in the historic expedition huts of Antarctica. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70. P. 1328–1335.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1328-1335.2004>
- Colwell R. K., Chao A., Gotelli N.J. et al.* Models and estimators linking individual-based and sample based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *J. Plant Ecology.* 2012. V. 5 (1). P. 3–21.  
<https://doi.org/10.1093/jpe/rtr044>
- Colwell R.K.* EstimateS 9.10. User's guide. 2014.  
<http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>.
- Connell L., Redman R., Craig S. et al.* Distribution and abundance of fungi in the soils of Taylor Valley, Antarctica. *Soil Biol. Biochem.* 2006. V. 38. P. 3083–3094.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.02.016>
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H.* Compendium of soil fungi. IHW-Verlag, Eching, 2007
- Godinho V.M., Furbino L.E., Santiago I.F. et al.* Diversity and bioprospecting of fungal communities associated with endemic and cold-adapted macroalgae in Antarctica. *The ISME J.* 2013. V. 7. P. 1434–1451.
- Goncalves V.N., Vaz A.B., Rosa C.A. et al.* Diversity and distribution of fungal communities in lakes of Antarctica. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012. V. 82. P. 59–471.  
<https://doi.org/10.1038/ismej.2013.77>
- Hagestad O.C., Andersen J.H., Altermark B. et al.* Cultivable marine fungi from the Arctic Archipelago of Svalbard and their antibacterial activity. *Mycology.* 2020. V. 11 (3). P. 230–242.  
<https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1708492>
- Hellmann L., Tegel W., Eggertsson Ó. et al.* Tracing the origin of Arctic driftwood. *J. Geophysical Research: Biogeosciences.* 2013. V. 118 (1). P. 68–76.  
<https://doi.org/10.1002/jgrg.20022>
- Hughes G.* Biogeography and the marine fungi *S.T. Moss* (ed.), *The biology of marine fungi*, Cambridge University Press, Cambridge, 1986, pp. 275–295.
- Index Fungorum. [A nomenclature database]. 2020.  
<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>.  
 Accessed 12.07.2020.
- Johansen S., Hytteborn H.* A contribution to the discussion of biota dispersal with drift ice and driftwood in the North Atlantic. *J. Biogeography.* 2001. V. 28. P. 105–115.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2001.00532.x>
- Johnson T.* The estuarine mycoflora. *G. Lauff* (ed.), *Estuaries*, American Association for the Advancement of Science Publication, Washington, 1967, pp. 303–305.
- Jones E.B.G.* Are there more marine fungi to be described? *Bot. Mar.* 2011. V. 54. P. 343–354.  
<https://doi.org/10.1515/bot.2011.043>
- Jurgens J.A., Blanchette R.A., Filley T.R.* Fungal diversity and deterioration in mummified woods from the ad Astra ice Cap Region in the Canadian high Arctic. *Polar Biol.* 2009. V. 32. P. 751–758.  
<https://doi.org/10.1007/s00300-008-0578-x>
- Kirtsideli I. Yu., Vlasov D. Yu., Barantsevich E.P. et al.* Microfungi from soil of polar desert at Izvestia island (in Kara Sea). *Mikoligiya i fitopatologiya.* 2014. V. 48 (3). P. 365–371 (in Russ.).
- Kirtsideli I. Yu., Vlasov D. Yu., Barantsevich E.P. et al.* Distribution of terrigenous microfungi in Arctic Seas. *Mikoligiya i fitopatologiya.* 2012. V. 46 (5). P. 306–310 (in Russ.).
- Kirtsideli I. Yu., Vlasov D. Yu., Novozhilov Yu.K. et al.* Assessment of anthropogenic influence on Antarctic mycobiota in areas of Russian polar stations. *Contemporary Problems of Ecology.* 2018. V. 11 (5). P. 449–457.  
<https://doi.org/10.1134/S1995425518050074>
- Kirtsideli I. Yu., Vlasov D. Yu., Zelenskaya M.S. et al.* Anthropogenic modification of mycobiota on Vize island (in the Kara Sea). *Gigiena i Sanitariya.* 2018. V. 97 (11). P. 1058–1063 (in Russ.).  
<https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1058-63>
- Kohlmeyer J.* On the definition and taxonomy of higher marine fungi. *Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremen* Supplement. 1974. V. 5. P. 263–286.
- Kolosova M.I., Solovieva N.G.* The main anatomical features of the wood of deciduous trees and shrubs. SPb., 2013 (in Russ.).
- Ludley K.E., Robinson C.H.* Decomposer' *Basidiomycota* in Arctic and Antarctic ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 2008. V. 40. P. 11–29.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.023>
- Malosso E., Waite I.S., English L. et al.* Fungal diversity in maritime Antarctic soils determined using a combination of culture isolation, molecular fingerprinting and cloning techniques. *Polar Biol.* 2006. V. 29. P. 552–561.  
<https://doi.org/10.1007/s00300-005-0088-z>
- Marchenko S., Cheng G., Lötstedt P. et al.* Thermal conductivity of firn at Lomonosovfonna, Svalbard, derived

- from subsurface temperature measurements. *The Cryosphere*. 2019. V. 13 (7). P. 1843–1859.  
<https://doi.org/10.5194/tc-13-1843-2019>
- Martín-Sanz A., Rueda S., García-Carneros A.B. et al. Cladosporium malorum: a new pathogen of sunflower causing wilting, yellowing, and leaf necrosis in Russia. Plant Disease*. 2018. V. 102 (4). P. 823–827.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1182-PDN>
- Methods of experimental mycology. Naukova Dumka, Kiev, 1982 (in Russ.).
- Pang K.-L., Chow R., Chan C. et al. Diversity and physiology of marine lignicolous fungi in Arctic waters: a preliminary account. Polar Res*. 2011. V. 30. P. 5859–5863.  
<https://doi.org/10.3402/polar.v30i0.5859>
- Pang K.-L., Overy D.P., Jones E.B.G. et al. “Marine fungi” and “marine-derived fungi” in natural product chemistry research: toward a new consensual definition. Fungal Biol. Rev*. 2016. V. 30(4). P. 163–175.  
<https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.08.001>
- Pivkin M.V. Secondary marine fungi of the Japan and Okhotsk Sea. Abstract of thesis ... Doct. Biol. Moscow, 2010 (in Russ.).*
- Rämä T., Hassett B.T., Bubnova E. Arctic marine fungi: from filaments and flagella to operational taxonomic units and beyond. Botanica Marina*. 2017. V. 60 (4). P. 433–452.  
<https://doi.org/10.1515/bot-2016-0104>
- Rämä T., Norden J., Davey M. et al. Fungi ahoy! Diversity on marine wooden substrata in the high North. Fungal Ecol*. 2014. V. 8. P. 46–58.  
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.12.002>
- Raper K.B., Thom C. A manual of the Penicillia. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1949.*
- Richards T.A., Jones M.D.M., Leonard G. et al. Marine fungi: their ecology and molecular diversity. Annual Review of Marine Science*. 2012. V. 4. P. 495–522.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100802>
- Schubert K., Groenewald J.Z., Braun U. et al. Biodiversity in the Cladosporium herbarum complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for Cladosporium taxonomy and diagnostics. Stud. Mycol*. 2007. V. 58. P. 105–156.  
<https://doi.org/10.3114/sim.2007.58.05>
- Shitikov V.K., Zinchenko T.D., Rozenberg G.S. Macroecology of river communities: concepts, methods, models. Tolyatti, 2011 (in Russ.).*
- Slepecky R.A., Starmer W.T. Phenotypic plasticity in fungi: a review with observations on Aureobasidium pullulans. Mycologia*. 2009. V. 101 (3). P. 823–832.  
<https://doi.org/10.3852/08-197>
- Sparrow F.K. The occurrence of saprophytic fungi in marine muds. The Biological Bulletin*. 1937. V. 73. P. 242–248.
- Terekhova V.A. Micromycetes in the ecological assessment of aquatic and terrestrial ecosystems. M.: Science. 2007. 214 p. (in Russ.).*
- Tosi S., Casado B., Gerdol R. et al. Fungi isolated from Antarctic mosses. Polar Biol*. 2002. V. 25. P. 262–268.  
<https://doi.org/10.1007/s00300-001-0337-8>
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M. Innis (eds). PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, 1990, pp. 315–322.*
- Wittenberg A.H.J., van der Lee T.A.J., Ben M'Barek S. et al. Meiosis drives extraordinary genome plasticity in the haploid fungal plant pathogen Mycosphaerella graminicola. PLoS One*. 2009. V. 4(6). e5863.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005863>
- Yatsenko-Khmelevsky A.A. Fundamentals and methods of anatomical study of wood. Moscow, Leningrad, 1954 (in Russ.).*
- Zhang T., Yao Y.-F. Endophytic fungal communities associated with vascular plants in the high Arctic zone are highly diverse and host specific. PLoS One*. 2015. 10.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130051>
- Александрова В.Д. (Aleksandrova) Геоботаническое районирование Арктики и Антарктики. Л.: Наука. 1977. 188 с.*
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П. и др. (Kiritsideli et al.) Комплексы микроскопических грибов в почвах и грунтах полярного острова Известий ЦИК (Карское море) // Микология и фитопатология. 2014. Т. 48. № 6. С. 365–371.*
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П. и др. (Kiritsideli et al.) Распространение терригенных микромицетов в водах Арктических морей // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. № 5. С. 306–310.*
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Зеленская М.С. и др. (Kiritsideli et al.) Антропогенная модификация микобиоты на острове Визе (Карское море) // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97. № 11. С. 1058–1063.*
- Колосова М.И., Соловьева Н.Г. (Kolossova, Solovieva) Основные анатомические признаки древесины лиственных деревьев и кустарников. СПб., 2013. 104 с.*
- Методы экспериментальной микологии. (Methods) / под ред. В.И. Билай. Киев.: Наукова Думка, 1982. 550 с.
- Пивкин М.В. (Pivkin) Вторичные морские грибы Японского и Охотского морей. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: МГУ, 2010. 40 с.*
- Терехова В.А. (Terekhova) Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 214 с.*
- Шитиков В.К., Зинченко Т.Д., Розенберг Г.С. (Shitikov et al.) Макроэкология речных сообществ: концепции, методы, модели. Тольятти, 2011. 255 с.*
- Яценко-Хмелевский А.А. (Yatsenko-Khmelevskiy) Основы и методы анатомического исследования древесины. М.-Л., 1954. 337 с.*

## Diversity of Microfungi on Driftwood in the Coastal Zone of the Greenland Sea (Svalbard Archipelago)

I. Yu. Kirtsideli<sup>a, #</sup>, E. G. Lukina<sup>b, ##</sup>, V. A. Iliushin<sup>a, ###</sup>, and D. Yu. Vlasov<sup>a, b, ####</sup>

<sup>a</sup> Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

<sup>b</sup> Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>#</sup> e-mail: microfungi@mail.ru

<sup>##</sup> e-mail: elizaveta121999@mail.ru

<sup>###</sup> e-mail: ilva94@yandex.ru

<sup>####</sup> e-mail: dmitry.vlasov@mail.ru

The material for the study was 59 wood samples that were collected in the period 2018–2019 in the coastal area of the Grunfjord of the Greenland Sea (Spitsbergen Archipelago). The wood was brought by the sea (driftwood) and was located on the coast of the bay at different distances from the water line. As a result of the research, complexes of microscopic fungi on the driftwood (spruce, pine, larch and aspen) were identified. Mycobiota of driftwood can be formed by water inhabiting fungi as well as due to species from the coastal zone of the Arctic seas. As result 65 species of microscopic fungi have been identified, mainly from the *Ascomycota*. Species of the genus *Cadophora* are noted in the largest number of the studied samples. Species diversity and occurrence of basidiomycetes were relatively low. In total, 50 species were observed on wood samples without destruction signs, and 36 species of micromycetes were observed on damaged wood. The destruction of the wood structure is accompanied by a decrease in species diversity and an increase in the occurrence of soil fungi typical for the natural environment of the Arctic, in particular *Pseudogymnoascus pannorum* and species of the genus *Penicillium*.

*Key words:* Arctic, Arctic seas, driftwood, microbial communities, microfungi, micromycetes

БИОРАЗНООБРАЗИЕ,  
СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 579.26 : 631.46

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИИ NO-TILL НА ЧИСЛЕННОСТЬ  
И ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ  
В ЮЖНЫХ АГРОЧЕРНОЗЕМАХ

© 2021 г. Д. А. Никитин<sup>1,\*</sup>, М. В. Семенов<sup>1,\*\*</sup>, А. Д. Железова<sup>1,\*\*\*</sup>, О. В. Кутовая<sup>1,\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup> Почвенный институт им. В.В. Докучаева, 119017 Москва, Россия

\*e-mail: dimnik90@mail.ru

\*\*e-mail: mikhail.v.semenov@gmail.com

\*\*\*e-mail: alferrum@mail.ru

\*\*\*\*e-mail: langobard@mail.ru

Поступила в редакцию 30.10.2020 г.

После доработки 10.12.2020 г.

Принята к публикации 21.12.2020 г.

Охарактеризованы сообщества культивируемых микроскопических грибов в южных агрочерноземах Ставропольского края, обрабатываемых по технологии no-till и традиционной вспашкой с оборотом пласта, для вариантов с различными сельскохозяйственными культурами и при внесении/отсутствии минеральных удобрений. В исследованных образцах преобладают олиготрофные, сапротрофные и целлюлолитические микромицеты. Наибольшей численностью и таксономическим разнообразием характеризуется род *Penicillium*. Почвы с традиционной вспашкой имеют более высокое разнообразие микромицетов по сравнению с почвами под no-till. Высокая численность целлюлолитиков выявлена в почвах с традиционной обработкой под соей и озимой пшеницей, а также под кукурузой с обработкой no-till вне зависимости от наличия/отсутствия удобрений. Оценка  $\beta$ -разнообразия показала, что сообщества микромицетов четко кластеризуются по фактору обработки почвы, разделяясь на два кластера (почвы под вспашкой и под технологией no-till). На полях no-till значительно выше обилие фитопатогенов и целлюлолитиков, а на вспаханных участках — сапротрофов и олиготрофов. Возделываемая сельскохозяйственная культура также влияла на доминирование тех или иных таксонов микобиоты, однако ее вклад в различия между сообществами микромицетов был значительно ниже. Таким образом, тип обработки почвы является более важным фактором формирования сообществ микромицетов, чем сельскохозяйственная культура и внесение удобрений в невысоких дозах. Применение технологии no-till не возвращает сообщество микобиоты к значениям для фоновых экосистем (некосимых степей), но значительно трансформирует его.

**Ключевые слова:** микромицеты, нулевая и традиционная обработка почвы, таксономическое разнообразие, численность КОЕ

**DOI:** 10.31857/S0026364821030077

## ВВЕДЕНИЕ

Основной целью сельского хозяйства является получение максимально высоких урожаев (Wallach et al., 2018). Для этого в настоящее время черноземы подвергаются усиленной агрогенной нагрузке (Zamotaev et al., 2016; Dridiger et al., 2017). Интенсивное воздействие орудиями земледелия при традиционной обработке почвы приводит к ухудшению многих агрономических свойств (Pykhtin, Gostev, 2012; Kiryushin, 2014; Lebedeva et al., 2016). При воздействии тяжелых механизмов на почву возрастает плотность подпахотного слоя, разрушаются агрономически ценные агрегаты, увеличивается эрозия (Dridiger et al., 2017). Усиленная обработка почвы приводит к уменьшению запасов углерода, качества и доступности органи-

ческого вещества почвы (Semenov, Kogut, 2015; Tsiafouli et al., 2015). Кроме того, интенсивная вспашка существенно снижает биоразнообразие агроценозов (Kutova et al., 2018; Brown et al., 2019), в том числе сокращается численность и разнообразие микобиоты (Semenov et al., 2016, 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 (Pykhtin, Gostev, 2012; Ma et al., 2012; Ju, 2014; Stewart, Globig, 2016). Однако в большинстве хозяйств черноземной полосы традиционная обра-

ботка с оборотом пласта по-прежнему остается наиболее распространенным способом земледелия.

Недостатки традиционной обработки почвы, а также тенденции к экологизации земледелия привели к распространению альтернативных технологий с минимальным воздействием на почву, в частности, no-till (Kiryushin, 2014; Makhotova, 2015; Dridiger, 2016; Pretty, Bhargava, 2018). Ее суть заключается в сокращении числа и глубины механических обработок полей, использовании относительно легких агрегатов для уменьшения физического давления на почву и покрывание ее поверхности растительной мульчей (Rainbow, Derpsch, 2011; Kiryushin, 2014; Dridiger, 2016). Ввиду того, что верхний слой почвы остается уплотненным по сравнению с традиционной обработкой, no-till в значительной мере препятствует водной и ветровой эрозии, а также помогает сохранить большие запасы почвенной влаги (Gras et al., 2016). Поэтому no-till рационально применять для почв в условиях недостаточного увлажнения, в том числе и для черноземной полосы. Тем не менее, большинство преимуществ нулевой обработки проявляется обычно не сразу, а в относительно долгосрочной (более 5 лет) перспективе (Pittelkow et al., 2015; Zhelezova et al., 2017; Blanco-Canqui et al., 2018). No-till считается почвосберегающей технологией, наиболее выгодной с экономической точки зрения для почв засушливого климата (Toliver et al., 2012; Pittelkow et al., 2015; Dridiger, 2016; Dridiger et al., 2017; Melnikov, Zhelezova, 2019; Yu et al., 2020). Применение no-till технологий должно предусматривать диверсификацию севооборотов как природного механизма элиминирования фитопатогенов (Orlova, Chernov, 2006; Toropova et al., 2018; Sommermann et al., 2018).

Черноземы, ввиду хорошей оструктуренности и богатства гумусом, имеют благоприятные свойства для культивирования растений и не требуют интенсивной механической обработки, что облегчает внедрение на поля с этим типом почв технологии no-till (Lebedeva et al., 2016; Dridiger et al., 2017). К достоинствам данной технологии также относятся снижение механической нагрузки на почву, сохранение ее структуры и запасов органического вещества (Drechsel et al., 2005; Trusov, 2012; Kiryushin, 2014). Таким образом, данная технология земледелия может помочь сохранить не возобновляемые почвенные ресурсы самых плодородных земель России.

Минимальная обработка почвы имеет и ряд недостатков, главными из которых являются повышенная засоренность посевов вредными растениями и фитопатогенными микроорганизмами (Anderson, 2008; Kiryushin, 2013; Trusov et al., 2017; Van Agtmaal et al., 2018), а также увеличение пестицидных нагрузок (Holland, 2004; Kharalagina, Rzaeva, 2007). Кроме того, no-till неэффективно использовать для переувлажненных территорий и

полей со сложным рельефом (Anderson, 2008; Trusov, 2012; Kiryushin, 2013; Sheehy et al., 2015; Liang et al., 2020). Нулевая обработка почв из-за недостаточного рыхления приводит также и к снижению аэрации, что усиливает денитрификацию и приводит к потерям азота из почвы (Yuan et al., 2018). В умеренном климатическом поясе обилие растительной мульчи на полях с no-till приводит к замедлению прогревания почвы, как следствие, растягиванию во времени периода всходов возделываемой культуры, а также к трудностям с внесением удобрений (Sheehy et al., 2015; Zhelezova et al., 2017). Фактически большинство из приведенных данных по преимуществам и недостаткам применения той или иной обработки почвы противоречиво, поэтому необходимо использование более чувствительных методов оценки почв.

По сравнению с остальной почвенной биотой, микроорганизмы наиболее быстро реагируют на разнообразные внешние воздействия, в том числе и на сельскохозяйственную обработку полей (Kuznetsova et al., 2016; Wang et al., 2017; Semenov et al., 2018). Изменения в численном и таксономическом составе прокариот и микобиоты могут служить индикатором заболеваний растений. Ввиду того, что большинство фитопатогенов являются грибами (Stewart, Globig, 2016), мы уделили внимание в исследовании именно этой группе почвенной микробиоты. Влияние no-till на микробиологические свойства почв и, в частности, на сообщества микроскопических грибов, изучено недостаточно полно (Wang et al., 2017; Schmidt et al., 2019). Однако микромиты в значительной степени определяют здоровье почвы (Schmidt et al., 2019), а деятельность сапротрофных микроскопических грибов может приводить к улучшению плодородия (Irawan et al., 2017). Следствием высокого содержания остатков мульчи сельскохозяйственных культур, характерного для технологии no-till, являются неконтролируемые вспышки заболеваний, вызываемых фитопатогенной микробиотой (Rainbow, Derpsch, 2011; Stewart, Globig, 2016; Schlatter et al., 2017). Проведено мало исследований по сравнению численности и таксономической структуры сообществ микроскопических грибов с применением технологии no-till даже для черноземов – наиболее плодородных и изученных почв (Kutovaya et al., 2018; Melnichuk et al., 2018).

Целью работы стала оценка численности КОЕ и таксономической структуры сообществ культивируемых микроскопических грибов в южных агрочерноземах Ставропольского края, обрабатываемых по технологии no-till и традиционной вспашкой с оборотом пласта для вариантов с различными сельскохозяйственными культурами и при внесении/отсутствии минеральных удобрений. Исследование включало следующие задачи: оценка влияния обработки почвы no-till на численность микромитов; выявление соотноше-



ний экологических групп микромицетов в почвах полей с нулевой сельскохозяйственной обработкой по сравнению со вспашкой; проверка гипотезы о возможности возвращения микробиологических и агрономических свойств пашни чернозема к целинному состоянию после длительного применения на полях технологии no-till.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Почвы.** Исследованы делянки полей с тремя типами учитываемых факторов: обработка почвы (традиционная вспашка с оборотом пласта и технология no-till); наличие/отсутствие минеральных удобрений; сельскохозяйственные культуры (соя, подсолнечник, кукуруза, озимая пшеница) (табл. 1). Площадь делянок опытных полей составляет 300 м<sup>2</sup> (50 × 6 м), учетная – 90 м<sup>2</sup>. Объекты исследования расположены в пределах опытного хозяйства ФГБНУ “Северо-Кавказский ФНАЦ” (45°07'48" с.ш. 42°01'39" в.д.), Шпаковский р-н Ставропольского края. Почвы всех опытных полей отнесены к чернозему обыкновенному среднemosшному слабогумусированному тяжелосуглинистому на лессовидных карбонатных суглинках (Gadzhumarov, Zhukova, 2018).

Пахотный горизонт вспаханной почвы содержит меньше органического углерода (3.87%) и нитратного азота (11.9 мг/кг) по сравнению с нативной почвой. Содержание лабильных форм фосфора составляет 18.7 мг/кг почвы, обменного калия – 245 мг/кг. Почва слабокислая (рН = 6.32).

Длительность обработок изучаемых почв составляет 7 лет. Повторность полевого опыта 3-кратная. На поля с обоими типами обработки перед посевом вносили минеральные удобрения (нитроаммофоска) в дозе N<sub>160</sub>P<sub>90</sub>K<sub>60</sub> под озимую пшеницу; N<sub>72</sub>P<sub>58</sub>K<sub>32</sub> – под подсолнечник; N<sub>80</sub>P<sub>48</sub>K<sub>48</sub> – под кукурузу; N<sub>60</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> – под сою.

Плотность почвы полей перед уборкой урожая в слое 0–10 см с традиционной обработкой составляла 1.23 г/см<sup>3</sup>, а для полей no-till – 1.24 г/см<sup>3</sup>. В качестве контроля рассматривалась необрабатываемая залежная почва вблизи опытных полей. Отбор образцов проводили в 3-кратной повторности из слоя 0–10 см в октябре 2018 г. с возможными мерами по предотвращению контаминации. До анализов образцы хранились при температуре 4°C. Список образцов приведен в табл. 1.

**Микробиологический посев.** Таксономический состав культивируемых микроскопических грибов определяли методом микробиологического посева на агаризованные среды (Zvyagintsev, 1991). В стерильных пластиковых пробирках готовили суспензии исследуемых образцов с разведениями 1 : 1000, 1 : 10 000, 1 : 100 000 для сред Чапека (ЧА), голодного агара (ГА) и крахмало-аммиачного агара (КАА) и с разведениями 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 для

**Таблица 1.** Перечень факторов, изучаемых на делянках опытных полей

Обработка почвы	Культура	Удобрения
Минимальная, прямой посев (no-till)	соя	–
		+
	кукуруза	–
		+
Традиционная (вспашка с оборотом пласта)	подсолнечник	–
		+
	озимая пшеница	–
		+
Контроль (почва без обработки)	соя	–
		+
	кукуруза	–
		+
Традиционная (вспашка с оборотом пласта)	подсолнечник	–
		+
	озимая пшеница	–
		+
Контроль (почва без обработки)	залежь	–

среды Гетчинсона (ГЕ) с целлюлозой. Десорбцию грибных спор от почвенных частиц осуществляли путем обработки почвенной суспензии на вортексе MSV-3500 (Латвия) при скорости 3500 об./мин в течение 5 мин. Аликвоту почвенной суспензии объемом 100 мкл помещали на поверхность стерильных агаризованных сред в чашках Петри диаметром 90 мм. Повторность каждого варианта посевов шестикратная. 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. Из посевов в чистые культуры выделяли морфотипы по макро- и микрокультуральным признакам (микроскоп Биомед-5). Общее α-разнообразие грибных сообществ оценивали по индексу Шеннона. β-разнообразие сообществ микромицетов оценивали с использованием многомерного шкалирования (nMDS) по метрике Брэя-Кертиса (Semenov et al., 2019).

**Процедура ПЦР.** Для всех изолятов микроскопических грибов предварительно проведена идентификация по культурально-морфологическим (Ellis, 1971; Domsch et al., 2007; Seifert, Gams, 2011) или молекулярно-биологическим признакам (по анализу участков ITS1–ITS2 рДНК). Выделение ДНК из чистых культур микромицетов проводили по методике Глушаковой с соавторами (Glushakova et al., 2011): биомассу 5–6-суточной культуры переносили в 2 мл эппендорфы, добавляли

400 мкл стеклянных шариков (300–500 мкм диаметром) и 500 мкл лизирующего буфера (TrisBase 50 mM, NaCl 250 mM, ЭДТА 50 mM, SDS 0.3%, pH 8). Приготовленную смесь взбалтывали на вортексе на скорости 3500 об./мин в течение 15 мин, затем инкубировали 1 ч при температуре 65°C, после снова трясали на вортексе 15 мин и центрифугировали (13.4 тыс. об./мин) 10 мин, отбирали надосадочную жидкость. Для амплификации региона рДНК, содержащего D1/D2 домен региона 26S рДНК, использовали праймеры ITS1f (5' CTTG-GTCATTTAGAGGAAGTA) и NL4 (5' GGTCCGT-GTTTCAAGACGG) и смеси для ПЦР ScreenMix (ЗАО “Евроген”, Москва). Амплификатор использовали по следующей программе: (начальная денатурация – 2 мин при температуре 96°C; затем 35 циклов: денатурация – 20 с при температуре 96°C, отжиг праймеров – 50 с при температуре 52°C, синтез ДНК – 1.5 мин при температуре 72°C; конечная достройка 7 мин при температуре 72°C). Очистку ПЦР-продукта проводили с использованием набора BigDye X Terminator Purification Kit (Applied Biosystems, США). Для секвенирования использовали праймер NL4. Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer в Научно-производственной компании “Синтол” (Москва). Идентификацию по полученным хроматограммам проводили, используя данные генбанка NCBI и Index Fungorum (2020).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

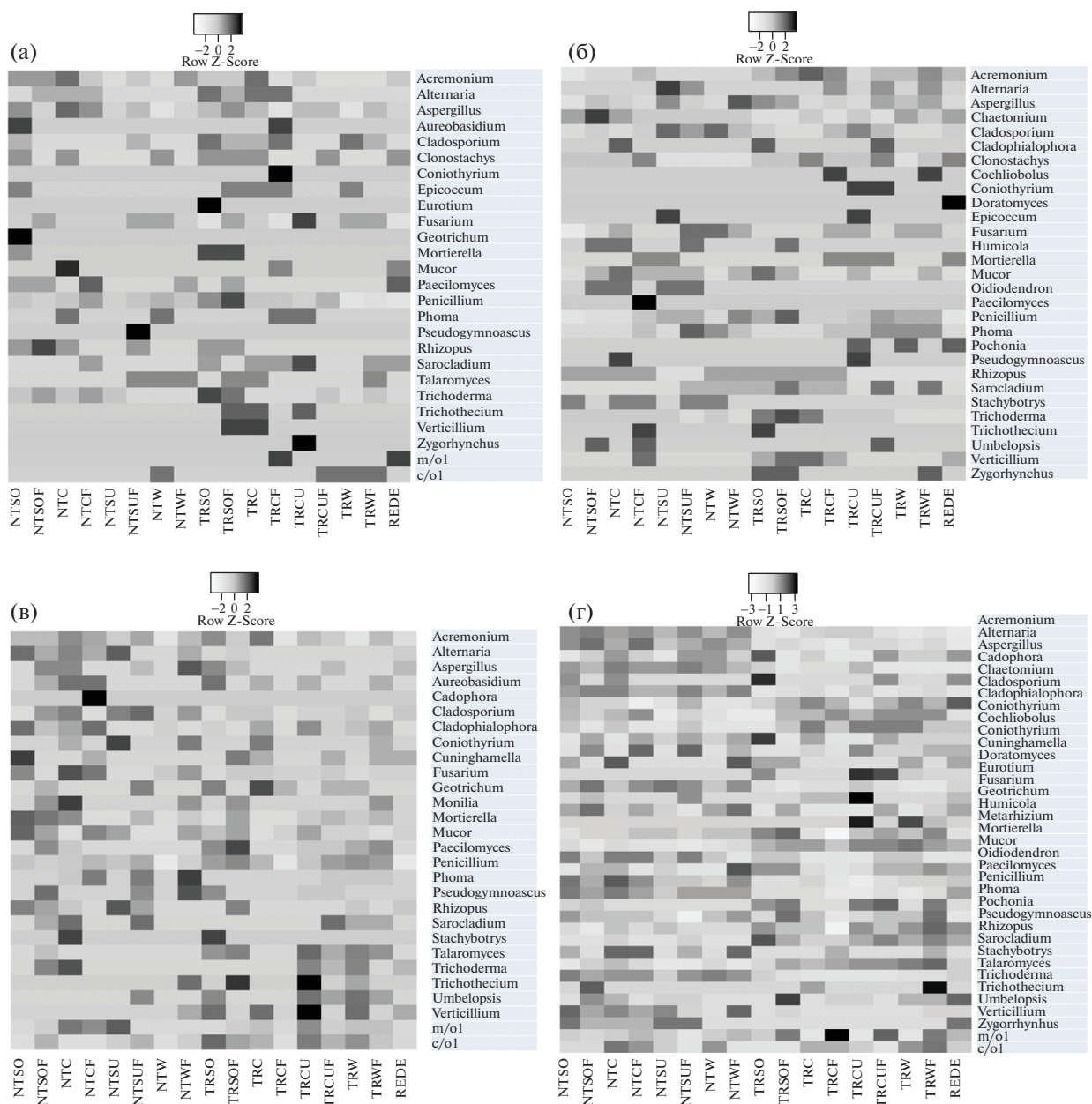
**Численность и таксономический состав микромицетов.** Общая численность культивируемых микромицетов в посевах исследованных почв (для индивидуального образца) составляла от  $2.5 \times 10^3$  до  $5.9 \times 10^4$  КОЕ/г почвы (рис. 1). Минимальные значения выявлены на среде ЧА и ГЕ, а максимальные – на голодном агаре, что, по-видимому, связано с преобладанием олиготрофной микобиоты.

Для среды ЧА наименьшая численность микромицетов ( $2.5 \times 10^3$  КОЕ/г почвы) определена для неудобренных полей no-till под подсолнечником и кукурузой на традиционно обрабатываемых делянках (рис. 1). На среде ГЕ наименьшее количество грибных пропагул в образцах полей с минимальной обработкой под соей без удобрений. Для обеих упомянутых сред максимальные значения выявлены для традиционно возделываемых делянок под соей вне зависимости от содержания удобрений. Значения численности микромицетов на среде КАА отличаются выравненностью для всех вариантов почв (около  $2.5 \times 10^4$  КОЕ/г почвы), кроме образцов полей no-till под пшеницей без удобрений, традиционно обрабатываемых

удобренных полей кукурузы и залежи, где численность культивируемой микобиоты меньше на порядок (от  $2 \times 10^3$  до  $7 \times 10^3$  КОЕ/г почвы). Для ГА также свойственна выравненность значений численности микромицетов для всех образцов (от  $4 \times 10^4$  до  $5.0 \times 10^4$  КОЕ/г почвы), кроме традиционно обрабатываемой делянки кукурузы с удобрениями.

Из исследованных почв выделено 63 вида микроскопических грибов, которые относятся к 35 родам из 2 отделов (рис. 1). Отдел *Mucoromycota* представлен шестью родами – *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Umbelopsis*, *Zygorhynchus*. Отдел *Ascomycota* – тремя телеоморфными (*Chaetomium*, *Eurotium* и *Talaromyces*) и 28-ю анаморфными родами (доминанты *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*). Выделено также и 2 типа изолятов, представленных стерильными пигментированными или гиалиновыми мицелиями неопределенного систематического положения ввиду их сложного культивирования. Наибольшим видовым разнообразием характеризовались роды *Penicillium* (8 видов), *Aspergillus* (8 видов), *Acremonium* (3 вида), *Trichoderma* (3 вида) и *Cladosporium* (3 вида). Данные роды являются типичными представителями сапротофного блока культивируемой почвенной микобиоты в умеренном климате (Ellis, 1971; Domsch et al., 2007; Seifert, Gams, 2011). В то же время многие представители этих родов, в первую очередь *Trichoderma harzianum* и *Cladosporium herbarum*, часто являются активными целлюлолитиками, разлагающими растительные остатки (Domsch et al., 2007), продукты деградации которых могут увеличивать плодородие почвы (Irawan et al., 2017). Известно, что целлюлолитическая активность почв, обрабатываемых по технологии no-till, гораздо больше, нежели для вспаханных земель (Kuznetsova et al., 2016). Максимальная встречаемость среди видов выявлена для *Penicillium janthinellum*, *Acremonium strictum*, *Fusarium solani*, *Clonostachys rosea* и *Trichoderma harzianum*. *Penicillium janthinellum* является типичным почвенным сапротрофом, продуцирующим токсины. *Acremonium strictum* известен как сапротроф и/или микопатоген. *Fusarium solani* и *Clonostachys rosea* – сапротрофы и/или фитопатогены. *Trichoderma harzianum* является активным целлюлолитиком и антагонистом многих фитопатогенов. Кроме того, в исследуемых почвах распространен целлюлолитик и фитопатоген *Cladosporium cladosporioides*. Таким образом, фитопатогенными свойствами из данного списка обладают лишь *Fusarium solani* и *Cladosporium cladosporioides* (Ellis, 1971; Domsch et al., 2007; Seifert, Gams, 2011). С другой стороны, все выявленные микромицеты, кроме *Acremonium* sp., входят в перечень условно патогенных для человека видов (Hoog et al., 2000).

Поскольку в исследовании использовались селективные питательные среды, на них выявлен различный таксономический состав микромице-



**Рис. 1.** Тепловая карта влияния исследуемых факторов [тип обработки почвы – no-till (NT) или традиционная (TR); сельскохозяйственная культура – соя (SO), кукуруза (C), подсолнечник (SU) или озимая пшеница (W); наличие (F) или отсутствие удобрений] на развитие культивируемых микроорганизмов]. Данные представлены в виде значений  $\lg N$  (где  $N$  – количество КОЕ/г почвы микроорганизмов определенной эколого-трофической группы), нормализованных по принципу Z-трансформации. Буквами обозначены: А – среда ЧА; Б – среда ГЕ; В – среда КАА; Г – среда ГА.

тов. Значительная часть родов присутствовала одновременно на всех средах, однако некоторые росли лишь на одной или двух средах. На среде ЧА не было выявлено 12 родов (в том числе *Chaetomium*, *Cochliobolus*, *Cunninghamella*, *Humicola*); на среде ГЕ не обнаружены восемь родов микромицетов (в первую очередь *Aureobasidium*, *Eurotium*, *Geotrichum*, *Monilia*); на среде КАА не были детектированы представители 11 родов (в том числе *Clonostachys*,

*Doratomyces*, *Epicoccum*, *Metarhizium*, *Oidiodendron*); на ГА отсутствуют *Aureobasidium*, *Epicoccum* и *Monilia*. Зная экологические особенности представителей каждого рода, можно объяснить такие закономерности. Эккрисотрофы (*Aureobasidium*, *Geotrichum*, *Epicoccum*, *Monilia*) не способны к росту при отсутствии легкодоступной органики; для целлюлолитиков (*Chaetomium*, *Cunninghamella*, *Doratomyces*, *Humicola*, *Oidiodendron*, *Zygorhynchus*)

основной субстрат – растительные остатки, а для энтомопатогенов (*Clonostachys*, *Metarhizium*, *Pochonia*) – беспозвоночные. Такие результаты подчеркивают важность применения нескольких сред для более полного изучения таксономического разнообразия микромицетов в биотопах (Seifert, Gams, 2011).

В исследованных образцах по обилию, численности и таксономическому разнообразию преобладают восемь целлюлолитических (доминирующие роды: *Chaetomium*, *Humicola*, *Trichoderma*, *Zygorhynchus*) и восемь олиготрофных/сапротрофных (доминанты *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pseudogymnoascus*) родов микромицетов. Значительно меньше по обилию фитопатогенных микромицетов (доминирующие роды: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Cochliobolus*, *Fusarium*, *Verticillium*). Наибольшей численностью (от  $3.4 \times 10^4$  до  $8.2 \times 10^4$  КОЕ/г почвы) и таксономическим разнообразием (до восьми видов во всех образцах) характеризовался род *Penicillium*. Обилие представителей этого рода максимально на среде КАА в образцах полей с традиционной обработкой под культурой сои и подсолнечника вне зависимости от наличия удобрения (рис. 1). Наиболее редкими по встречаемости видами в исследованных почвах являлись *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus sclerotiorum*, *Eurotium niveoglaucum*, *Trichotecium roseum*, *Humicola fuscoatra*, *Oideodendron* sp., *Cochliobolus lunatus*. Большинство из перечисленных в этом списке микромицетов – целлюлолитики (Seifert, Gams, 2011).

Сапротрофные микромицеты в исследуемых образцах выявлены на всех применяемых средах и представлены типичными почвенными таксонами (Domsch et al., 2007; Seifert, Gams, 2011) – *Aspergillus* spp., *Cunninghamella elongata*, *Eurotium niveoglaucum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium* spp., *Pseudogymnoascus pannorum*, *Talaromyces flavus*, *Umbelopsis ramanniana*. Их значительная часть входит в базу данных BSL патогенных для человека видов (Hoog et al., 2000). Наибольшая численность КОЕ представителей рода *Aspergillus* ( $10^2$ – $10^3$  КОЕ/г почвы) выявлена в образцах полей с нулевой и традиционной обработкой под пшеницей, среди которых особо выделялись образцы с удобрениями, где детектировали высокую численность ( $10^3$ – $10^4$  КОЕ/г почвы) условно-патогенных для человека видов родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Сапротрофная группа микроскопических грибов широко специализирована и может одинаково хорошо разлагать разнообразные типы субстрата: как сложные полисахариды (лигнин, целлюлозу и др.), так и легкодоступную органику (сахара, аминокислоты и др.). В результате деятельности сапротрофов разлагается большая часть растительных и животных остатков, происходит минерализация органики и может происходить образование почвенного органического вещества, уве-

личивающего плодородие почвы (Irawan et al., 2017).

Высокая численность ( $10^3$ – $10^4$  КОЕ/г почвы) целлюлолитиков выявлена, в основном, на селективной среде ГЕ в посевах образцов поля с традиционной обработкой под подсолнечником без удобрений (преобладал вид *Sarocladium kiliense*), поля с нулевой обработкой под удобренной пшеницей (доминировал *Zygorhynchus moelleri*) и неудобренной кукурузой (преобладали *Sarocladium kiliense* и *Chaetomium globosum*). На этой среде численность КОЕ микромицетов вышеперечисленных родов существенно возрастает по сравнению с количеством пропагул, вырастающих на среде ЧА.

Образцы полей no-till под подсолнечником и почвы вспаханных участков под кукурузой и подсолнечником содержали большое таксономическое разнообразие и значительную численность ( $10^3$ – $10^4$  КОЕ/г почвы) фитопатогенов, выявленных преимущественно на средах Чапека и голодном агаре. В образце поля no-till под подсолнечником с удобрением доминировали *Phoma herbarum* и *Ph. exhigua*, а без удобрений – *Alternaria alternata*, *A. tenuissima* и *Cladosporium cladosporioides*; в образцах полей с традиционной обработкой под кукурузой и пшеницей – *Acremonium* sp., *Acremonium murorum*, *A. strictum*; в образце полей с традиционной обработкой под кукурузой – *Verticillium tenerum*, *Verticillium* sp.; в образце вспаханных полей под подсолнечником – *Cladosporium cladosporioides* и *C. herbarum*.

Эккрисотрофы участвуют в разложении и преобразовании специфической легкодоступной органики, выделяемой растениями (Bacon, White, 2016). Численность эккрисотрофной группы, выявленной в данной работе, преимущественно, на среде ЧА и КАА, также была незначительной ( $10^1$ – $10^2$  КОЕ/г почвы для каждого из видов), кроме *Fusarium solani* – фитопатогена и аллергена человека (Kirk et al., 2008; Tadych, White, 2009), количество КОЕ которого доходило до  $10^3$  КОЕ/г почвы в образце поля с нулевой обработкой под неудобренной пшеницей на среде ГЕ. Единичные колонии *Geotrichum candidum* выявлены лишь в образце поля с нулевой обработкой под соей без удобрений. Данный вид обычно имеет дрожжеподобный рост и имеет широкую экологическую пластичность, хорошо адаптируясь как к относительно засушливым, так и к переувлажненным локусам (Domsch et al., 2007; Deak, 2009). Численность эпифитов в исследованных почвах относительно велика (до  $10^3$  КОЕ/г почвы) за счет *Trichotecium roseum* и *Aureobasidium pullulans* в образцах полей с традиционной обработкой под кукурузой вне зависимости от наличия удобрений. Колонии эккрисотрофов (*Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum nigrum*, *Monilia geophila*, *Trichotecium roseum*) отмечены единично. Чрезвычайно редко и с крайне

низкой численностью ( $10^1$ – $10^2$  КОЕ/г почвы) встречались энтомопатогенные/нематодопатогенные микромицеты (Driver et al., 2000; Vega et al., 2008) родов *Clonostachys*, *Metarhizium*, *Pochonia*.

Часть эккрисотрофов одновременно являются эпифитными или эндофитными микромицетами – неотъемлемым компонентом филлосферы растений (Tadych, White, 2009; Vacon, White, 2016). Влияние данной экологической группы микобиоты, выявленной в данной работе в основном на средах ЧА и КАА, на физиологию растений по-прежнему слабо изучено. Однако известно, что если растение является здоровым, то эпифитные микромицеты защищают его от фитопатогенов и выделяют вещества, способствующие росту растения (Vacon, White, 2016). С другой стороны, если растение ослаблено, некоторые из этих грибов могут переходить к паразитизму на хозяине или сапротрофии (Tadych, White, 2009). Численность эпифитов значительна (до  $10^3$  КОЕ/г почвы) исключительно за счет *Trichotecium roseum* в образце поля с традиционной обработкой под неудобренной кукурузой и дрожжеподобного микромицета *Aureobasidium pullulans* – в образце поля с традиционной обработкой под удобренной кукурузой. *Trichotecium roseum* в некоторых условиях продуцирует значительное количество афлотоксинов, опасных для человека и животных (Hoog et al., 2000; Žabka et al., 2006). *Aureobasidium pullulans* может переходить к эндофитному образу жизни, по-видимому, помогая растению в реализации некоторых метаболических путей (Domsch et al., 2007; Vega et al., 2008).

Численность микромицетов условно патогенных для человека (группы BSL-1 и BSL-2) была незначительной –  $10^1$ – $10^2$  КОЕ/г почвы для каждого из видов. Исключением явился лишь *Sarocladium kiliense* (ранее известен как *Acremonium kiliense*), количество КОЕ которого в образцах поля no-till под кукурузой без удобрений, традиционно обработанного поля под пшеницей без удобрений и залежью на среде ГЕ достигало  $10^3$  КОЕ/г почвы. Данный вид относится к категории BSL-2 потенциально патогенных микроорганизмов, активно растет и спороносит при температуре 37°C и может выступать агентом микозов у людей с ослабленным иммунитетом (Brady, 1983; Hoog et al., 2000).

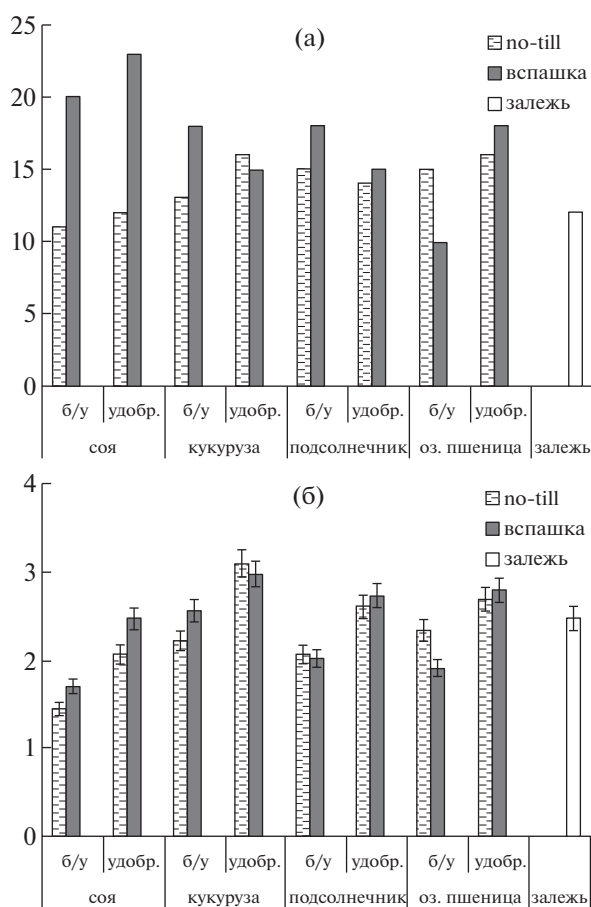
Важно отметить, что для многих микромицетов характерна двойная экологическая роль. Например, представители рода *Fusarium* в одних условиях могут являться эккрисотрофами, в других – сапротрофами и даже стимулировать рост растений гиббереллинами (Tudzynski, 2005), однако при снижении здоровья растений штаммы *Fusarium* spp. начинают проявлять фитопатогенную активность (Kuldau, Yates, 2000; Stewart, Globig, 2016). В зависимости от многих экологических факторов, обычными почвенными сапротрофами или же фитопатогенами являются также микромице-

ты родов *Acremonium*, *Alternaria*, *Cadophora*, *Cladosporium*, *Cochliobolus*, *Coniothyrium*, *Phoma* и *Verticillium*. Представители родов *Clonostachys*, *Metarhizium*, *Pochonia* могут быть как сапротрофами, так и энтомопатогенными видами (Driver et al., 2000; Vega et al., 2008). Для определения специфической (фитопатогенной, энтомопатогенной и др.) активности конкретных штаммов необходимо проводить дополнительные лабораторные и полевые эксперименты.

Рассматриваемые факторы (тип обработки почвы, растения и наличия/отсутствия удобрений) отражались на таксономическом составе почвенных микромицетов. Так, на среде ЧА представители родов *Coniothyrium*, *Eurotium*, *Trichothecium*, *Verticillium*, *Zygorhynchus* и темноокрашенного стерильного мицелия присутствовали только в посевах образцов традиционно возделываемых полей (рис. 1). В то же время, роды *Geotrichum* и *Pseudogymnoascus* выявлены для этой среды исключительно в посевах полей no-till. Только к кукурузе на среде ЧА были приурочены *Coniothyrium*, *Mucor* и темноокрашенный стерильный мицелий; лишь к сое на этой среде приурочены *Eurotium*, *Geotrichum*, *Mortierella*. Для подсолнечника характерны *Pseudogymnoascus* и *Zygorhynchus*. Микромицеты родов *Clonostachys*, *Eurotium*, *Geotrichum* и *Zygorhynchus* выявлялись лишь в неудобренных вариантах на среде ЧА, а *Coniothyrium*, *Pseudogymnoascus* и темноокрашенный стерильный мицелий – исключительно в образцах удобренных полей. На среде ГЕ представители родов *Cochliobolus*, *Coniothyrium*, *Doratomyces*, *Pochonia* и *Zygorhynchus* присутствовали только в посевах образцов традиционно возделываемых полей (рис. 1). В то же время роды *Oidiodendron*, *Paecilomyces*, *Stachybotrys* выявлены для этой среды исключительно среди культивируемых микромицетов на полях no-till. Только к подсолнечнику на среде ГЕ приурочены *Coniothyrium*, *Epicoccum* и *Pochonia*; лишь для кукурузы – *Paecilomyces*. Микромицеты родов *Epicoccum*, *Pochonia* и *Pseudogymnoascus* отмечены лишь в неудобренных вариантах на среде ГЕ, а *Cochliobolus*, *Paecilomyces* и *Umbelopsis* – исключительно в образцах удобренных полей. Только для образцов залежи на среде ГЕ характерен род *Doratomyces*. Микромицеты рода *Cadophora* выявлены исключительно в образцах удобренных полей под кукурузой. На ГА представители родов *Eurotium* и *Metarhizium* присутствовали только в посевах образцов традиционно возделываемых полей.

**Характеристика  $\alpha$ -разнообразия микромицетов.** Количество выделенных видов микроскопических грибов в исследуемых образцах почвы колебалось от 10 до 23 на образец (рис. 2). Такая широкая вариабельность связана с разнонаправленным влиянием эколого-трофических факторов в вариантах опыта, в том числе с большим количеством сельскохозяйственных культур и разнообразием





**Рис. 2.**  $\alpha$ -Разнообразие сообщества почвенных микроорганизмов: А – число видов на вариант эксперимента; Б – индекса Шеннона.

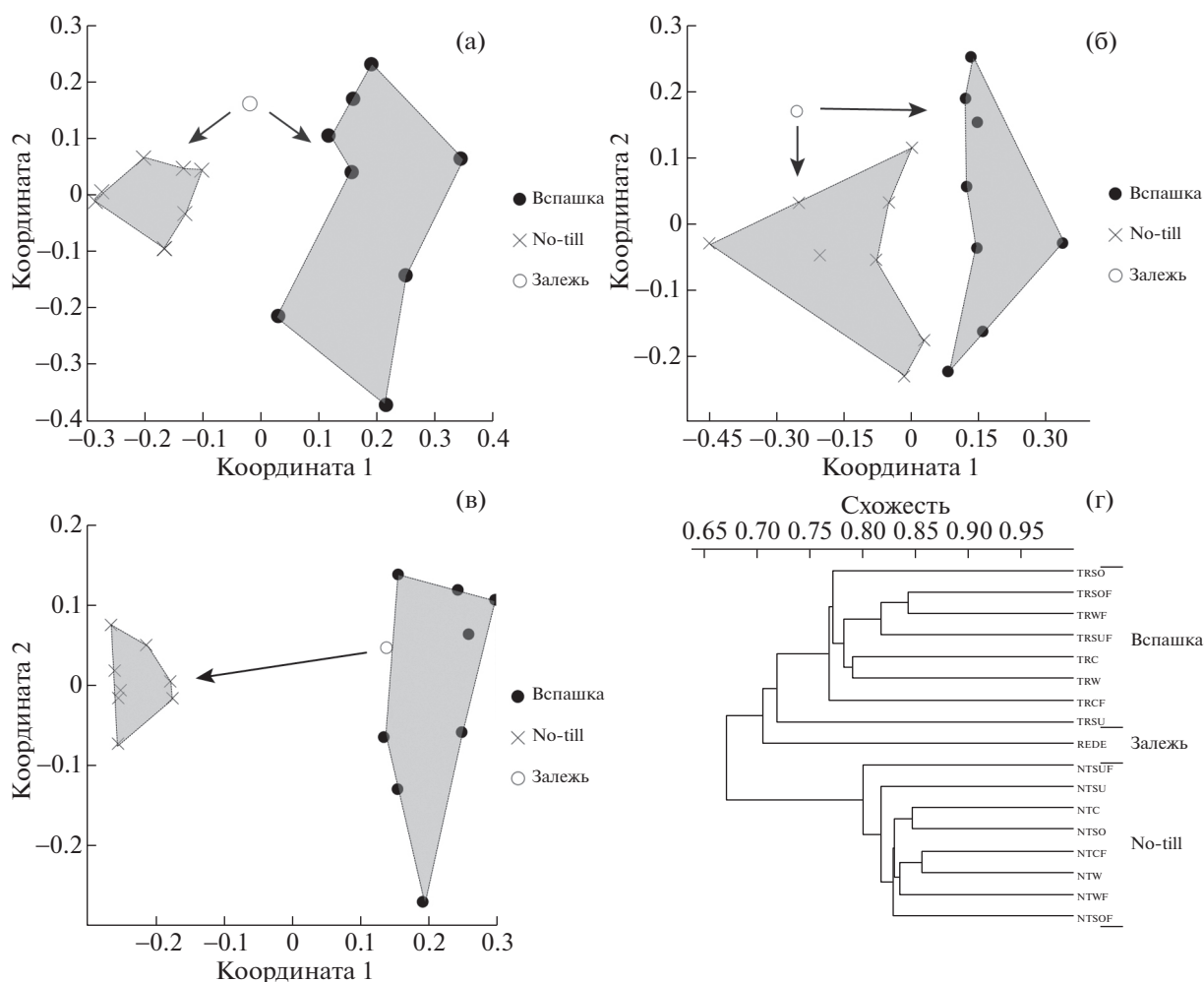
обработок почвы. Наибольшее число видов отмечено для вспахиваемых и удобренных делянок сои, минимальное – для вспахиваемых делянок озимой пшеницы без удобрений.

Для сообществ почвенных микроорганизмов изучаемых вариантов рассчитан индекс Шеннона (рис. 2), по которому можно оценить  $\alpha$ -разнообразие. Индекс Шеннона варьирует от 1.4 до 3.3. Его минимальные значения отмечены в варианте поля по-till под неудобренной соей, а максимальные – для делянки по-till под удобренной кукурузой. Высокое содержание азота в почве зачастую благоприятствует развитию быстрорастущих *r*-стратегов (Männistö et al., 2016). Внесение в почву значительного количества минеральных удобрений обогащает микроэлементами многие олиготрофные локусы, способствуя росту ряда минорных таксонов микробного сообщества в почве (Zhong, Cai, 2007), но также и угнетению многих доминантных таксонов. Кукуруза обладает наиболее развитой корневой системой, захватывая большую площадь почвы по сравнению с остальными

рассматриваемыми сельскохозяйственными культурами. При этом происходит более обширная аэрация почвенных слоев, что создает благоприятные условия для развития многих микроорганизмов (Xiao et al., 2019). Для большинства вариантов эксперимента значения индекса Шеннона составляют от 2.0 до 2.5, что соответствует уровню разнообразия сообществ микроорганизмов в контроле – залежи, где индекс Шеннона 2.48. Характерно, что в полях с традиционной обработкой почв почти для всех делянок  $\alpha$ -разнообразие выше, нежели для вариантов по-till. Сходные тенденции отмечались в предыдущих исследованиях (Kutovaya et al., 2018) и могут быть объяснены более высоким содержанием в почве кислорода, низкая концентрация которого лимитирует многих микроорганизмов (Golovchenko et al., 2013).

Оценка индекса разнообразия Шеннона выявила четкие тренды в отклике микобиоты, которые связаны, главным образом, с типом обработки почвы и в меньшей степени с видом сельскохозяйственной культуры. Наличие удобрений лишь незначительно влияло на структуру сообществ микобиоты исследованных агрочерноземов. Таким образом, на основе полученных данных  $\alpha$ -разнообразия, тип обработки почвы является ключевым фактором агрогенных изменений сообщества почвенных микроскопических грибов. При длительном внесении удобрений роль растений в формировании почвенного и ризосферного сообщества микроорганизмов может значительно снижаться (Semenov et al., 2019).

**Характеристика  $\beta$ -разнообразия микроорганизмов.** Оценка  $\beta$ -разнообразия показала, что сообщества микроорганизмов четко кластеризуются по фактору обработки почвы, разделяясь на два кластера (почвы под вспашкой и под технологией по-till) (рис. 3). Наиболее четко по фактору обработки почвы кластеризовались сообщества микроорганизмов на средах ЧА, ГЕ и ГА, поскольку их состав предопределяет появление тех или иных экологотрофических групп (на ЧА – сахаролитики и сапротрофы; на ГЕ – целлюлолитики и фитопатогены; на ГА – олиготрофы). Такие четкие различия сообществ микроорганизмов в почвах с разным типом обработки вызваны тем, что на полях по-till значительно выше обилие фитопатогенов (представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Cochliobolus*, *Fusarium*, *Phoma* и *Verticillium*) и целлюлолитиков (виды родов *Chaetomium*, *Sarocladium*, *Zygorhynchus*), а на вспаханных делянках – сапротрофов и олиготрофов (виды родов *Aspergillus*, *Cunninghamella*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Umbelopsis*). Возделываемая сельскохозяйственная культура также влияла на доминирование тех или иных таксонов микобиоты, однако ее вклад в различия между сообществами микроорганизмов был значительно ниже. Например, под подсолнечником преобладали представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Sarocladium*, *Phoma*;



**Рис. 3.** Оценка различий сообществ микромицетов, культивируемых на средах с использованием многомерного шкалирования (nMDS) и метрики Брея – Кертиса: А – среда ЧА; Б – среда ГЕ; В – среда ГА; Г – кластерный анализ по факторам для среды ГА.

под озимой пшеницей – *Acremonium* и *Zygorhynchus moelleri*; под кукурузой – *Chaetomium*, *Sarocladium* и *Verticillium*.

Таким образом, метод микробиологического посева для анализа микобиоты почвы является эффективным приемом выявления изменений в структуре сообществ микромицетов при разных типах обработки почвы. Полученные результаты согласуются с данными других исследований (Wetzel et al., 2014), где показано, что анализ культивируемой микобиоты при разных типах обработки почвы может быть даже более эффективен, чем некоторые молекулярные подходы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследованных образцах по обилию, численности и таксономическому разнообразию преоб-

ладают целлюлолитические (представители родов *Chaetomium*, *Sarocladium*, *Trichoderma*, *Zygorhynchus*) и олиготрофные/сапротрофные (виды родов *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pseudogymnoascus*) микромицеты. Наибольшим видовым разнообразием характеризовались роды: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Cladosporium*. Максимальная встречаемость выявлена у *Penicillium janthinellum*. Среди выявленных микромицетов фитопатогенными свойствами обладают лишь *Fusarium solani* и *Cladosporium cladosporioides*.

Разница в технологии обработки почвы значительно изменяет структуру сообществ культивируемых микромицетов, тогда как возделываемая сельскохозяйственная культура является менее важным фактором формирования сообщества микроскопических грибов южных агрочерноземов. Минимальные значения индекса Шеннона

отмечаются в варианте поля no-till под неудобренной соей, а максимальные — для делянки no-till под удобренной кукурузой. Для большинства вариантов значения индекса Шеннона соответствуют уровню разнообразия сообществ микромицетов в залежи. Почвы с традиционной вспашкой характеризуются более высоким разнообразием микромицетов по сравнению с почвами под no-till. No-till не возвращает сообщество микобиоты к значениям для фоновых экосистем (некосимых степей), но значительно трансформирует его. Полученные результаты демонстрируют, что метод микробиологического посева для анализа микобиоты почвы является эффективным приемом выявления изменений в структуре сообществ микромицетов при разных типах обработки почвы.

Работа выполнена при поддержке проекта федеральной целевой программы “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы” на тему “Глобальный климат и агроландшафты России: разработка системы оценки и управления рисками деградации Русских черноземов” (соглашение с Минобрнауки России № 075-15-2019-1689 от 06.12.2019 г., уникальный идентификатор проекта RFME-FI60419X0222).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Anderson R.L.* Diversity and No-till: keys for pest management in the U/S/Great Plains. *Weed Science*. 2008. V. 56. P. 141–145.  
<https://doi.org/10.1614/WS-07-007.1>
- Bacon C.W., White J.F.* Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis*. 2016. V. 68 (1–3). P. 87–98.  
<https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>
- Blanco-Canqui H., Ruis S.J.* No-tillage and soil physical environment. *Geoderma*. 2018. V. 326 P. 164–200.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.03.011>
- Brady B.L.* *Acremonium kiliense*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. 1983. P. 741–750.
- Brown C., Helgason T., Dytham C. et al.* Distance-decay patterns overshadow effects of long-term fertilization and tillage on microbial community structure in agricultural soils. *Access Microbiology*. 2019. V. 1 (1A).  
<https://doi.org/10.1099/acmi.ac2019.po0276>
- Deak T.* Ecology and biodiversity of yeasts with potential value in biotechnology. In: *Yeast biotechnology: diversity and applications*. Springer, Dordrecht, 2009, pp. 151–168.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8292-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8292-4_8)
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H.* Compendium of soil fungi, 2nd taxonomically revised edition by W. Gams. IHW-Verlag, Eching, 2007.
- Drechsel P., Olaleye A., Adeoti A. et al.* Adoption driver and constraints of resource conservation technologies in sub-Saharan Africa. Berlin, Humboldt Universitaet, 2005. P. 1–21.
- Dridiger V.K.* On the research methodology of no-till technology. *Zemledeliye i rasteniyevodstvo*. 2016. V. 5. P. 30–32 (in Russ.).
- Dridiger V.K., Nevecherya A.F., Tokarev I.D. et al.* (Dridiger et al.) Economic efficiency of No-till technology in the arid zone of the Stavropol Territory // *Zemledeliye*. 2017. V. 3. P. 16–19 (in Russ.).
- Driver F., Milner R.J., Trueman W.H.A.* A Taxonomic revision of *Metarhizium* based on sequence analysis of ribosomal DNA. *Mycol. Res*. 2000. P. 135–151.  
<https://doi.org/10.1017/S0953756299001756>
- Ellis M.B.* Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, London, 1971.
- Gadzhumarov R.G., Zhukova M.P.* Influence of cultivation technologies and fertilizers on the growth, development and yield of soybeans in the zone of unstable moisture in the Central Ciscaucasia. *Vestnik APK Stavropolya*. 2018. V. 1 (29). P. 81–85 (in Russ.).
- Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Chernov I.Yu.* Specific features of the dynamics of epiphytic and soil yeast communities in the thickets of Indian balsam on mucky gley soil. *Eurasian Soil Science*. 2011. V. 44. P. 886–892.  
<https://doi.org/10.1134/S1064229311080059>
- Golovchenko A.V., Kurakov A.V., Semenova T.A. et al.* Abundance, diversity, viability, and factorial ecology of fungi in peatbogs. *Eurasian Soil Science*. 2013. V. 46 (1). P. 74–90.  
<https://doi.org/10.1134/S1064229313010031>
- Gras C., Hernández V.* Hegemony, technological innovation and corporate identities: 50 years of agricultural revolutions in Argentina. *J. Agrarian Change*. 2016. V. 16 (4). P. 675–683.  
<https://doi.org/10.1111/joac.12162>
- Holland J.M.* The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe: reviewing the evidence. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2004. V. 103. P. 1–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2003.12.018>
- Hoog G.S. de, Guarro J., Gené J. et al.* Atlas of clinical fungi. 2nd ed. Utrecht, Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.
- Index Fungorum. [A nomenclature database]. 2020. <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>. Accessed 12.09.2020.
- Irawan B., Afandi A., Hadi S.* Effects of saprophytic microfungi application on soil fertility based on their decomposition properties. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2017. V. 2. P. 15–19.
- Ju X.T.* The concept and meanings of nitrogen fertilizer availability ratio-discussing misunderstanding of traditional nitrogen use efficiency. *Acta Pedologica Sinica*. 2014. V. 51 (5). P. 921–933.
- Kharalgina O.S., Rzaeva V.V.* Zero tillage-effective herbicide systems. *Agrarnyy vestnik Urala*. 2007. V. 5 (41). P. 22–23 (in Russ.).



- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. et al. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. CAB International, 2008.
- Kiryushin V.I. The legacy of V.R. Williams and modern problems of agrosil science. *Izvestiya Timiryazevskoy selskokhozyaystvennoy akademii*. 2014. V. 1. P. 5–15 (in Russ.).
- Kiryushin V.I. The problem of minimizing soil cultivation: development prospects and research tasks. *Zemledeliye*. 2013. V. 7. P. 3–6 (in Russ.).
- Kuldau G.A., Yates I.E. Evidence for *Fusarium* Endophytes. In: *Microbial endophytes*. 2000, p. 85.
- Kutovaya O.V., Grebennikov A.M., Tkhakakhova A.K. et al. (Kutovaya et al.) Changes in soil biological processes and the structure of the microbial community of agrosil chernozems under different methods of soil cultivation. *Dokuchaev Soil Bulletin*. 2018. V. 92. P. 35–61 (in Russ.).  
<https://doi.org/10.19047/0136-1694-2018-92-35-61>
- Kuznetsova L.N., Shiryaev A.V., Stupakov A.G. Biological activity of typical chernozem depending on the processing method. *Sakharnaya svekla*. 2016. V. 1. P. 36–41 (in Russ.).
- Lebedeva I.I., Bazykina G.S., Grebennikov A.M. et al. (Lebedeva et al.) Experience of a comprehensive assessment of the impact of the duration of agricultural use on the properties and regimes of agrosil chernozems of the Kamennaya Steppe. *Dokuchaev Soil Bulletin*. 2016. V. 83. P. 77–102 (in Russ.).  
<https://doi.org/10.19047/0136-1694-2016-83-77-102>
- Liang B.C., Vanden Bygaart A.J., MacDonald J.D. et al. Revisiting no-till's impact on soil organic carbon storage in Canada. *Soil and Tillage Research*. 2020. V. 198. P. 104–529.  
<https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104529>
- Ma L., Velthof G.L., Wang F.H. et al. Nitrogen and phosphorus use efficiencies and losses in the food chain in China at regional scales in 1980 and 2005. *Science of The Total Environment*. 2012. V. 434. P. 51–61.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.028>
- Makhotlova M.Sh. Greening Intensive Farming. *Zhurnal nauchnykh i prikladnykh issledovaniy*. 2015. V. 4. P. 73–74 (in Russ.).
- Männistö M., Ganzert L., Tirola M. et al. Do shifts in life strategies explain microbial community responses to increasing nitrogen in tundra soil? *Soil Biol. Biochem*. 2016. V. 96. P. 216–228.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.02.012>
- Melnichuk T.N., Abdurashitov S.F., Andronov E.E. et al. Changes in the composition of the microbiome of southern chernozem under the influence of farming systems and microbial preparations. *Tavrisheskiy vestnik agrarnoy nauki*. 2018. V. 4. P. 76–87 (in Russ.).
- Melnikov A.V., Zhelezova S.V. Traditional plowing or zero technology – which is more profitable for the production of winter wheat in the non-chernozem zone of Russia? *Teoreticheskiye i prikladnyye problemy agroindustrialii*. 2019. V. 39 (1). P. 35–40 (in Russ.).
- Mirchink T.G. *Soil mycology*. Moscow, 1988 (in Russ.).
- Orlova L.V., Chernov N.D. et al. *Recommendations*. Ed. L.V. Orlova. 3rd ed. Evrotekhnik, Moscow, 2006 (in Russ.).
- Pittelkow C.M., Linquist B.A., Lundy M.E. et al. When does no-till yield more? A global meta-analysis. *Field Crops Research*. 2015. V. 183. P. 156–168.  
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.07.020>
- Pretty J., Bharucha Z.P. Sustainable Intensification of Agriculture: Greening the World's Food Economy. Routledge. 2018. P. 190.
- Pykhtin I.G., Gostev A.V. Modern problems of using various systems and methods of basic soil cultivation. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2012. V. 1. P. 3–6 (in Russ.).
- Rainbow R., Derpsch R. Advances in no-till farming technologies and soil compaction management in rainfed farming systems/Rainfed farming systems. 2011. P. 991–1014. Springer, Dordrecht.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9132-2\\_39](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9132-2_39)
- Schlatter D.C., Schillinger W.F., Bary A.I. et al. Biosolids and conservation tillage: Impacts on soil fungal communities in dryland wheat-fallow cropping systems. *Soil Biol. Biochem*. 2017. V. 115. P. 556–567.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.09.021>
- Seifert K.A., Gams W. The genera of *Hyphomycetes*—2011 update. *Persoonia: Molecular phylogeny and evolution of fungi*. 2011. V. 27 (119).  
<https://doi.org/10.3767/003158511X617435>
- Semenov M.V., Chernov T.I., Tkhakakhova A.K. et al. Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century. *Applied Soil Ecology*. 2018. V. 127. P. 8–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.03.002>
- Semenov M.V., Manucharova N.A., Stepanov A.L. Distribution of metabolically active prokaryotes (*Archaea* and *Bacteria*) throughout the profiles of chernozem and brown semidesert soil. *Eurasian Soil Science*. 2016. V. 49 (2). P. 217–225.  
<https://doi.org/10.1134/S1064229316020101>
- Semenov M.V., Nikitin D.A., Stepanov A.L. et al. The structure of bacterial and fungal communities in the rhizosphere and root-free loci of gray forest soil. *Eurasian Soil Science*. 2019. V. 52 (3). P. 319–332.  
<https://doi.org/10.1134/S1064229319010137>
- Semenov V.M., Kogut B.M. *Soil organic matter*. Moscow, 2015 (in Russ.).
- Sheehy J., Regina K., Alakukku L. et al. Impact of no-till and reduced tillage on aggregation and aggregate-associated carbon in Northern European agroecosystems. *Soil and Tillage Research*. 2015. V. 150. P. 107–113.  
<https://doi.org/10.1016/j.still.2015.01.015>
- Sommermann L., Geistlinger J., Wibberg D. et al. Fungal community profiles in agricultural soils of a long-term field trial under different tillage, fertilization and crop rotation conditions analyzed by high-throughput ITS-amplicon sequencing. *PloS One*. 2018. V. 13 (4). P. e0195345.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195345>
- Stewart P., Globig S. *Phytopathology in plants*. Academic Press, 2016.

- Tadych M., White J.F.* Endophytic microbes. In: Encyclopedia of microbiology. V. 1. Elsevier, Amsterdam etc., 2009, pp. 431–442.
- Toliver D.K., Larson J.A., Roberts R.K. et al.* Effects of no-till on yields as influenced by crop and environmental factors. *Agronomy J.* 2012. V. 104. P. 530–541. <https://doi.org/10.2134/agronj2011.0291>
- Toropova E.Yu., Selyuk M.P., Posazhennikov S.N.* (Toporova et al.) The influence of cultivated plants on saprotrophic microorganisms and soil suppression. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2018. V. 32 (7). P. 17–20 (in Russ.).
- Trusov A.S.* No-till and Strip-till technologies – the main advantages (experience ООО “Zerno Belogorya”). *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2012. V. 12. P. 20 (in Russ.).
- Tsiafouli M.A., Thébault E., Sgardelis S.P. et al.* Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology.* 2015. V. 21 (2). P. 973–985. <https://doi.org/10.1111/gcb.12752>
- Tudzynski B.* Gibberellin biosynthesis in fungi: genes, enzymes, evolution, and impact on biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005. V. 66 (6). P. 597–611. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1805-1>
- Turusov V.I., Garmashov V.M., Nuzhnaya N.A.* Weed infestation of crops at different methods and systems of basic tillage in crop rotation. *Zashchita i karantin rasteniy.* 2017. V. 9. P. 19–21 (in Russ.).
- Van Agtmaal M., Straathof A.L., Termorshuizen A. et al.* Volatile-mediated suppression of plant pathogens is related to soil properties and microbial community composition. *Soil Biol. Biochem.* 2018. V. 117. P. 164–174. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.11.015>
- Vega F.E., Posada F., Aime M.C. et al.* Entomopathogenic fungal endophytes. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.008>
- Wallach D., Makowski D., Jones J.W. et al.* Working with dynamic crop models: methods, tools and examples for agriculture and environment. Academic Press, 2018.
- Wang Y., Li C., Tu C. et al.* Long-term no-tillage and organic input management enhanced the diversity and stability of soil microbial community. *Science of the Total Environment.* 2017. V. 609. P. 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.053>
- Wetzel K., Silva G., Matczinski U. et al.* Superior differentiation of arbuscular mycorrhizal fungal communities from till and no-till plots by morphological spore identification when compared to T-RFLP. *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 72. P. 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.01.033>
- Xiao D., Xiao S., Ye Y. et al.* Microbial biomass, metabolic functional diversity, and activity are affected differently by tillage disturbance and maize planting in a typical karst calcareous soil. *J. Soils and Sediments.* 2019. V. 19 (2). P. 809–821. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2101-5>
- Yu Q., Wang H., Wen P. et al.* A suitable rotational conservation tillage system ameliorates soil physical properties and wheat yield: An 11-year in-situ study in a semi-arid agroecosystem. *Soil Tillage Res.* 2020. P. 199. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104600>
- Yuan M., Greer K.D., Nafziger E.D. et al.* Soil N<sub>2</sub>O emissions as affected by long-term residue removal and no-till practices in continuous corn. *GCB Bioenergy.* 2018. V. 10 (12). P. 972–985. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12564>
- Žabka M., Drastichová K., Jegorov A. et al.* Direct evidence of plant-pathogenic activity of fungal metabolites of *Trichothecium roseum* on apple. *Mycopathologia.* 2006. V. 162 (1). P. 65–68. <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0030-0>
- Zamotaev I.V., Belobrov V.P., Kurbatova A.N. et al.* Agrogenic and postagrogenic transformation of soils in the Lgovsky district of the Kursk Region. *Dokuchaev Soil Bulletin.* 2016. V. 85. P. 97–114 (in Russ.). <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2016-85-97-114>
- Zhelezova S.V., Akimov T.A., Beloshapkina O.O. et al.* Influence of different technologies of winter wheat cultivation on the yield and phytosanitary state of crops (on the example of the field experience of the Center for Precision Farming of the Timiryazev State Agricultural University – Moscow Agricultural Academy). *Agrokimiya.* 2017. V. 4. P. 65–75 (in Russ.).
- Zhong W.H., Cai Z.C.* Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. *Appl. Soil Ecol.* 2007. V. 36 (2–3). P. 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.12.001>
- Zvyagintsev D.G.* Methods of soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Moscow State University Publishing House, Moscow, 1991 (in Russ.).
- Гаджиумаров Р.Г., Жукова М.П.* (Gadzhiumarov, Zhukova) Влияние технологий возделывания и удобрений на рост, развитие и урожайность сои в зоне неустойчивого увлажнения Центрального Предкавказья // Вестник АПК Ставрополя. 2018. № 1 (29). С. 81–85.
- Головченко А.В., Кураков А.В., Семенова Т.А. и др.* (Golovchenko et al.) Обилие, разнообразие, жизнеспособность и факторная экология грибов в торфяниках // Почвоведение. 2013. № 1. С. 80–97.
- Дридигер В.К.* (Dridiger) О методике исследований технологии no-till // Земледелие и растениеводство. 2016. № 5. С. 30–32.
- Дридигер В.К., Невечеря А.Ф., Токарев И.Д. и др.* (Dridiger et al.) Экономическая эффективность технологии No-till в засушливой зоне Ставропольского края // Земледелие. 2017. № 3. С. 16–19.
- Железова С.В., Акимов Т.А., Белошapkина О.О. и др.* (Zhelezova et al.) Влияние разных технологий возделывания озимой пшеницы на урожайность и фитосанитарное состояние посевов (на примере полевого опыта Центра точного земледелия РГАУ–МСХА им. КА Тимирязева) // Агрохимия. 2017. № 4. С. 65–75.
- Замотаев И.В., Белобров В.П., Курбатова А.Н. и др.* (Zamotaev et al.) Агрогенная и постагрогенная трансформация почв Львовского района Курской обла-

- сти // Бюлл. Почвенного ин-та им. В.В. Докучаева. 2016. № 85. С. 97–114.
- Звягинцев Д.Г.* (Zvyagintsev) Методы почвенной микробиологии и биохимии. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
- Кирюшин В.И.* (Kiryshin) Наследие В.Р. Вильямса и современные проблемы агропочвоведения // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2014. № 1. С. 5–15.
- Кирюшин В.И.* (Kiryshin) Проблема минимизации обработки почвы: перспективы развития и задачи исследований // Земледелие. 2013. № 7. С. 3–6.
- Кузнецова Л.Н., Ширяев А.В., Ступаков А.Г.* (Kuznetsova et al.) Биологическая активность чернозема типичного в зависимости от способа обработки // Сахарная свекла. 2016. № 1. С. 36–41.
- Кутювая О.В., Гребенников А.М., Тхакахова А.К. и др.* (Kutovaya et al.) Изменение почвенно-биологических процессов и структуры микробного сообщества агрочерноземов при разных способах обработки почвы // Бюлл. Почвенного ин-та им. В.В. Докучаева. 2018. № 92. С. 35–61.
- Лебедева И.И., Базыкина Г.С., Гребенников А.М. и др.* (Lebedeva et al.) Опыт комплексной оценки влияния длительности земледельческого использования на свойства и режимы агрочерноземов Каменной степи // Бюлл. Почвенного ин-та им. В.В. Докучаева. 2016. № 83. С. 77–102.
- Махотлова М.Ш.* (Mahotova) Экологизация интенсивного земледелия // Журнал научных и прикладных исследований. 2015. № 4. С. 73–74.
- Мельников А.В., Железова С.В.* (Melnikova, Zhelezova) Традиционная вспашка или нулевая технология — что выгоднее для производства озимой пшеницы в нечерноземной зоне России? // Теоретические и прикладные проблемы агроиндустрии. 2019. № 39 (1). С. 35–40.
- Мельничук Т.Н., Абдурашитов С.Ф., Андронов Е.Е. и др.* (Melnichuk et al.) Изменение состава микробиома чернозема южного при влиянии систем земледелия и микробных препаратов // Таврический вестник аграрной науки. 2018. № 4. С. 76–87.
- Мирчинк Т.Г.* (Mirchink) Почвенная микология. М.: Изд-во Московского ун-та, 1988. 220 с.
- Орлова Л.В., Чернов Н.Д. и др.* Рекомендации. Под ред. Л.В. Орловой. 3-е изд. Москва: Евротехника, 2006. 183 с.
- Пыхтин И.Г., Гостев А.В.* (Pykhtin, Gostev) Современные проблемы применения различных систем и способов основной обработки почвы // Достижения науки и техники АПК. 2012. № 1. С. 3–6.
- Семенов В.М., Когут Б.М.* (Semenov, Kogut). Почвенное органическое вещество. М., 2015.
- Семенов М.В., Манучарова Н.А., Степанов А.Л.* (Semenov et al.) Распределение метаболически активных представителей прокариот (архей и бактерий) по профилям чернозема и бурой полупустынной почвы // Почвоведение. 2016. № 2. С. 239–248.
- Семенов М.В., Никитин Д.А., Степанов А.Л. и др.* (Semenov et al.) Структура бактериальных и грибных сообществ ризосферного и внекорневого локусов серой лесной почвы // Почвоведение. 2019. № 3. С. 355–369.
- Торопова Е.Ю., Селюк М.П., Посажеников С.Н.* (Tоропова et al.) Влияние культурных растений на сапротрофные микроорганизмы и супрессивность почвы // Достижения науки и техники АПК. 2018. Т. 32. № 7. С. 17–20.
- Трусов А.С.* (Trusov) Технологии No-till и Strip-till — основные преимущества (опыт ООО “Зерно Белогорья”) // Достижения науки и техники АПК. 2012. № 12. С. 20.
- Турусов В.И., Гармашов В.М., Нужная Н.А.* (Turusov et al.) Засоренность посевов при разных приемах и системах основной обработки почвы в севообороте // Защита и карантин растений. 2017. № 9. С. 19–21.
- Харалгина О.С., Рзаева В.В.* (Kharalgina, Rzaeva) Нулевой обработке почвы — эффективные системы гербицидов // Аграрный вестник Урала. 2007. № 5 (41). С. 22–23.

## Influence of No-Till Technology on Number and Taxonomic Composition of Microscopic Fungi in Southern Agrochernozemes

D. A. Nikitin<sup>a, #</sup>, M. V. Semenov<sup>a, ##</sup>, A. D. Zhelezova<sup>a, ###</sup>, and O. V. Kutovaya<sup>a, ####</sup>

<sup>a</sup> Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, Russia

<sup>#</sup>e-mail: dimnik90@mail.ru

<sup>##</sup>e-mail: mikhail.v.semenov@gmail.com

<sup>###</sup>e-mail: alferrum@mail.ru

<sup>####</sup>e-mail: langobard@mail.ru

Communities of cultivated microscopic fungi in the southern agrochernozemes of the Stavropol Territory, cultivated using no-till technology and traditional plowing with soil layer turnover for variants with different crops and with the application/absence of mineral fertilizers, are characterized. The studied samples are dominated by

oligotrophic, saprotrophic and cellulolytic micromycetes. The genus *Penicillium* was characterized by the highest abundance and taxonomic diversity. Soils under traditional plowing had higher diversity of micromycetes compared to soils under no-till. A high number of cellulolytics was detected in soils with traditional tillage under soy and winter wheat, as well as under corn with no-till processing, regardless of the presence/absence of fertilizers. The number of eccrisotrophic and epiphytic groups is insignificant in all studied variants. In fields with traditional soil cultivation, for almost all experimental variants, the  $\alpha$ -diversity of micromycetes is higher than in no-till variants. The  $\beta$ -diversity analysis has shown that micromycete communities are clearly clustered by the soil tillage type, divided into two clusters (soil under plowing and under no-till). In no-till fields, the abundances of phytopathogens and cellulolytics are significantly higher, while in plowed plots saprotrotrophs and oligotrophs are abundant. Cultivated crops have also influenced the dominance of certain micromycete taxa, but their contribution to differences between the micromycete communities has been significantly lower. Thus, the type of soil cultivation is a more important factor in the formation of micromycete communities than the crop and low-dose fertilization. The application of no-till does not recover the micromycete communities to those present in natural ecosystems (unmowed steppes), but significantly transform them.

*Keywords:* CFU abundance, micromycetes, taxonomic diversity, zero and traditional tillage

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ  
БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 632.911.4

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ШТАММОВ *ALTERNARIA JAPONICA*

© 2021 г. Д. Р. Салимова<sup>1,\*</sup>, Д. С. Кочура<sup>2,\*\*</sup>, С. В. Сокорнова<sup>1,\*\*\*</sup>, А. С. Орина<sup>1,\*\*\*\*</sup>,  
Ф. Б. Ганнибал<sup>1,\*\*\*\*\*</sup>, А. О. Берестецкий<sup>1,\*\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека, 188663 Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: salimova.92@bk.ru

\*\*e-mail: zcaryg@gmail.com

\*\*\*e-mail: svokornova@vizr.spb.ru

\*\*\*\*e-mail: orina-alex@yandex.ru

\*\*\*\*\*e-mail: fgannibal@vizr.spb.ru

\*\*\*\*\*e-mail: aberestetskiy@vizr.spb.ru

Поступила в редакцию 25.08.2020 г.

После доработки 15.11.2020 г.

Принята к публикации 23.12.2020 г.

Грибы рода *Alternaria* являются продуцентами биологически активных соединений, среди которых патоген редиса и некоторых других крестоцветных вид *Alternaria japonica* изучен недостаточно, а имеющиеся данные литературы о токсических метаболитах этого фитопатогена противоречивы. Возможно, они связаны с использованием узкого набора питательных субстратов для культивирования гриба, либо с неточной видовой идентификацией использованных штаммов. Цель представленной работы – провести точную идентификацию российских штаммов *A. japonica* и определить токсигенный потенциал этого гриба. На основе полифазного подхода – оценки комплекса морфологических признаков (диаметр и морфология недельных колоний на диагностических агаризованных средах КМА и YES, размеры конидий, наличие хламидоспор), анализа нуклеотидных последовательностей ДНК-маркеров (участков ITS и EF1 $\alpha$ ) и хемотаксономических данных (образование микотоксинов) – идентифицировано 4 российских штамма *A. japonica*. Выход биомассы и экстрактивных веществ из культур *A. japonica* существенно зависел от состава жидкой питательной среды. Анализ метаболитных профилей экстрактов при помощи ВЭЖХ/МС-УФ показал слабые различия между штаммами *A. japonica*. Экстракты из культур этих грибов обладали фитотоксической активностью в отношении листьев редиса и цитотоксичностью в отношении клеток инфузории-туфельки на уровне действия экстрактов гриба *A. tenuissima*. В экстрактах *A. japonica* идентифицированы известные у некоторых видов рода *Alternaria* брассициколин А, дигидробрассициколин А, фоменин А и фоменин Б. Микотоксины (альтернариол, его метиловый эфир, тентоксин, теназуоновая кислота, альтенуен), характерные для космополитного вида *A. tenuissima*, в культурах штаммов *A. japonica* не обнаружены. Анализ токсичности экстрактов и выхода экстрактивных веществ у различных штаммов *A. japonica* показал, что штамм MFP244011 может быть использован для продукции как известных, так и предположительно новых токсинов при культивировании на синтетической среде М1Д и полусинтетических жидких питательных средах (например, среде Сабуро).

**Ключевые слова:** идентификация, метаболитные профили, продуктивность, токсигенность, экстракты, *Alternaria japonica*

**DOI:** 10.31857/S0026364821030090

## ВВЕДЕНИЕ

Грибы рода *Alternaria* Nees хорошо известны как продуценты биологически активных соединений, прежде всего, микотоксинов. Многие из выявленных у различных видов альтернариоидных грибов метаболиты обладают полезными свойствами, благодаря которым они могут быть использованы в медицине и защите растений (Lou et al.,

2013; Dalinova et al., 2020). Скрининг экстрактов из культур различных малоизученных видов этого рода выявил, что штамм MFP181011 *A. japonica* Yoshii образует при культивировании в жидкой культуре фитотоксические и инсектицидные метаболиты (Berestetskiy et al., 2018, 2019). Вид *A. japonica* широко распространен в мире и вызывает болезни ряда крестоцветных культур (рапс, канола, редис, редька, турнепс, кресс-салат, гулявник и другие),

**Таблица 1.** Происхождение штаммов *Alternaria japonica* и *A. tenuissima*, использованных в работе и номера нуклеотидных последовательностей, депонированных в базе данных NCBI

Штамм	Вид	Происхождение	Номер в NCBI	
			ITS	EF1 $\alpha$
MFP181011	<i>A. japonica</i>	плод редьки, Московская обл.	MT895504	MT904295
MFP 239011	<i>A. japonica</i>	семена редиса, место сбора неизвестно	MT895505	MT904296
MFP 244011	<i>A. japonica</i>	семена редиса, место сбора неизвестно	MT895503	MT904294
MFP 259011	<i>A. japonica</i>	семена капусты, Республика Дагестан	MT895502	MT904293
MFP253011	<i>A. tenuissima</i>	плод редьки, Республика Дагестан	MT895501	MT904292

являясь, как правило, наиболее патогенным в комплексе альтернариоидных грибов, поражающих указанные растения (Corlett, Corlett, 1999; Gilardi et al., 2014; Gannibal, 2015; Al-lami et al., 2018, 2019a, 2019b; Gilardi et al., 2018; Blagojević et al., 2020). Иногда этот вид встречаются на растениях других семейств, однако высокую патогенность грибок проявляет при заражении представителей семейства *Brassicaceae* (Nishikawa, Nakashima, 2020). Кроме того, *A. japonica* предложен в качестве потенциального микогербицида против дикой редьки (*Raphanus raphanistrum*, *Brassicaceae*) в Австралии (Scott, 2012), водяного гиацинта (*Eichhornia crassipes*, *Pontederiaceae*) в Индии (Dutta et al., 2015), а также в качестве продуцента гербицидных метаболитов для борьбы с партениумом позднеплодным (*Parthenium hysterophorus*, *Asteraceae*) в Пакистане (Javaid et al., 2017).

Метаболиты *Alternaria japonica* и их токсигенные свойства изучены недостаточно. Проведено предварительное изучение летучих метаболитов *A. japonica*, среди которых выявлены хорошо известные вещества, способные проявлять биологическую активность (Javaid et al., 2019). Имеется информация, что этот вид, наряду с некоторыми другими видами рода *Alternaria*, образует тентоксин – хорошо известный олигопептидный фитотоксин (Suemitsu et al., 1992). Изучение образования пяти основных микотоксинов альтернариоидных грибов (тенуазоновой кислоты, альтернариола, его метилового эфира, альтенуена и тентоксина) в чистой культуре 10 штаммов *A. japonica* показало, что у 8 штаммов эти вещества не выявлены, у одного – обнаружены все указанные токсины, за исключением тентоксина, у одного – выявлена только тенуазоновая кислота (Siciliano et al., 2015, 2017). Таким образом, имеющиеся данные литературы о токсических метаболитах *A. japonica* противоречивы. Возможно, они связаны с использованием различными авторами разных питательных субстратов (либо узкого их набора) для культивирования грибов либо с неточной видовой идентификацией использованных культур. Следует отметить также, что морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства российских штаммов этого гриба не изучены.

Цель представленной работы – охарактеризовать штаммы *A. japonica* как продуценты биологически активных соединений и определить токсигенный потенциал метаболитов этого гриба. Для этого уточнена видовая принадлежность четырех российских штаммов *A. japonica* при помощи микологических и молекулярно-генетических методов, оценен выход экстрактивных веществ из культур микромицетов, полученных на различных жидких и твердых питательных средах, проанализированы метаболитные профили экстрактов по их комплексности и составу, а также определена токсигенность полученных экстрактов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объекты исследований.** В работе использованы 4 штамма *A. japonica* из коллекции чистых культур Лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского института защиты растений, которые были выделены и предварительно идентифицированы Ф.Б. Ганнибалом: MFP181011 (далее 181), MFP239011 (далее 239), MFP244011 (далее 244) и MFP 259011 (далее 259). Штамм наиболее распространенного вида рода *Alternaria* – *A. tenuissima* MFP253011 (далее 253) использован для сравнения (табл. 1). Культуры сохраняли на стандартной среде КГА (картофельно-глюкозный агар) при температуре 5°C.

**Видовая идентификация.** Для описания морфолого-культуральных свойств штаммы выращивали на двух стандартных агаризованных средах (КМА и YES) при температуре 24°C при постоянном освещении лампами дневного света (4 повторности) и при постоянной темноте (4 повторности). Анализировали диаметр и морфологию недельных колоний, длину и ширину конидий, наличие хламидоспор, согласно рекомендациям по определению грибов рода *Alternaria* (Gannibal, 2011). Экстракцию ДНК из воздушного мицелия грибов проводили с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва) либо как описано ранее (Sokornova et al., 2018). Таксономически значимые участки гена фактора элонгации 1 $\alpha$  (EF1 $\alpha$ ) и транскрибируемого внутреннего спейсера (ITS) были амплифицированы.

цированы с помощью праймеров EF1-728f/EF1-986r (Carbone, Kohn, 1999) и ITS1/ITS4 (White et al., 1990). В состав смеси для ПЦР входили DreamTaq™ Green Master Mix (2X) (Thermo Scientific, США), по 5 пикомоль каждого праймера и 1 мкл препарата ДНК. Очистку продуктов ПЦР из агарозного геля осуществляли с помощью набора *diaGene* (Диаэм, Россия). Нуклеотидную последовательность определяли на секвенаторе ABIPrism 3500 (Applied Biosystems-Hitachi, США) с использованием набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, США). Выравнивание и редактирование нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы Vector NTI Advance 10 (Thermo Fisher Scientific, США) или в свободной программе BioEdit. Полученные си-квенсы депонированы в базе данных NCBI (табл. 1) и сопоставлены с имеющимися в ней последовательностями нуклеотидов грибов.

**Культивирование грибов.** В работе использованы две синтетические и две полусинтетические стандартные жидкие питательные среды: среда Чапека с витаминами (ЧАВ) (20 г глюкозы, 2 г NaNO<sub>3</sub>, 1 г KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>, 0.5 г MgSO<sub>4</sub>, 0.5 г KCl, 100 мкг тиамин, 5 мкг биотина, вода до 1 л, pH 6), M1D [0.45 г Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0.15 г KNO<sub>3</sub>, 0.15 г KCl, 0.03 г NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 45 г сахарозы, 7.5 г виннокислого аммония, 0.003 г FeCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, 0.0375 г ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, 0.003 г H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.015 г KJ, 0.75 г MnSO<sub>4</sub>, 5.25 г MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O, вода до 1 л, pH 6], ДМГ (20 г глюкозы, 10 г мальтозного экстракта, 4 г дрожжевого экстракта, вода до 1 л), среда Сабуро (10 г пептона, 40 г глюкозы, вода до 1 л) в литровых конических колбах с 300 мл среды. Грибы культивировали также на твердом субстрате: 100 г перловой крупы, 60 мл воды в 500-миллилитровых конических колбах. Субстраты стерилизовали автоклавированием при температуре 121°C в течение 20 мин. В качестве посевного материала использовали блоки 5 мм в диам. из края двухнедельных колоний грибов, полученных на КМА при 24°C. Инкубацию микромицетов осуществляли при постоянной температуре 24°C в темноте в течение трех недель. Для улучшения аэрации и предотвращения комкования твердых культур колбы ежедневно тщательно встряхивали. Культивирование грибов выполнили в трех повторностях.

**Получение экстрактов.** Экстракцию грибных экзометаболитов из фильтрата культуральной жидкости проводили растворителями разной полярности и при разном значении pH культурального фильтрата: 300 мл фильтрата подщелачивали раствором 0.1 N NaOH до нейтрального значения и экстрагировали в делительной воронке двумя 150-миллилитровыми порциями хлористого метилена; оставшуюся водную фазу концентрированной муравьиной кислотой доводили до pH 3, после чего грибные метаболиты извлекали двумя 150-миллилитровыми порциями этилацетата. Эн-

дометаболиты изучаемых микромицетов экстрагировали из сухого измельченного мицелия сначала гексаном, затем этилацетатом двумя 100-мл порциями каждого растворителя. Растворители отгоняли из экстрактов при помощи ротационного испарителя при температуре водяной бани 40°C, после чего определяли массу сухого остатка.

**Анализ метаболитного профиля экстрактов.** Сухой остаток экстрактов растворяли в ацетонитриле до концентрации 5 мг/мл. Использована хроматографическая система Acella с трехквadrupольным масс-спектрометрическим детектором TSQ Quantum Access™ (Thermo Scientific, США). Условия хроматографирования: колонка Acquity UPLC BEH C18 2.1 × 100 мм с зернением 1.7 мкм (Waters, США). Разделение экстрактов (объем вводимой пробы – 2 мкл) осуществляли на колонке Zorbax SB-C18 150×2.1 мм с зернением 1.8 мкм (Agilent, США) при скорости подачи элюента 250 мкл/мин в градиентном режиме в системе ацетонитрил–0.1%-я муравьиная кислота в градиентном режиме: концентрация ацетонитрила повышалась от 1 до 95% в течение первых 17 минут; 95% ацетонитрила с 18-й минуты в течение трех минут; с 20-й минуты до 20.01 минуты концентрация ацетонитрила понижалась до 1% и поддерживалась еще 5 минут на этом уровне. Тип ионизации масс-детектора – термоэлектрораспыление, диапазон сканирования 100–1000 m/z с частотой 0.8 секунды в режиме положительно заряженных ионов. Хроматограммы анализировали с помощью открытой программы MZmine 2.4 (Pluskal et al., 2010). Для сравнения метаболитных профилей экстрактов на хроматограммах определяли время удерживания (t<sub>R</sub>) и значения m/z пиков основных метаболитов. Для идентификации веществ в экстрактах использовали также стандарты тенуазоновой кислоты, альтернариола и его метилового эфира.

**Биологическая активность экстрактов.** Фитотоксическую активность экстрактов оценивали на надколотых острой иглой листовых высеках из листьев редиса (*Raphanus sativus* var. *sativus*, сорт Заря). Цитотоксичность экстрактов оценивали на культуре инфузории-туфельки (*Paramecium caudatum*), предоставленной Д.О. Виноходовым (Санкт-Петербургский технический университет) и поддерживаемой на среде Лозина–Лозинского при комнатной температуре. Методики биопроб были подробно изложены ранее (Berestetskiy et al., 2020).

**Статистическая обработка данных.** Статистические расчеты проводили с помощью программы SigmaPlot 12.5. Однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ проводили с помощью программы Statistica 10 (StatSoft, США) функции ANOVA. Достоверность различий между средними устанавливали на основе критерия наименьшей средней разности (Fisher's LSD Method) на уровне значимости P = 0.05.

**Таблица 2.** Морфолого-культуральные признаки исследованных штаммов *Alternaria* spp.

Штамм	Диаметр недельных колоний, мм		Размеры корпуса конидий, мкм		Наличие хламидоспор
	КМА	YES	длина	ширина	
181	60 ± 0.4 <sup>4</sup>	39 ± 0.4	49 ± 12.3	21 ± 5.4	+
239	67 ± 1.9	31 ± 0.6	46 ± 6.9	18 ± 3.4	+
244	59 ± 2.0	35 ± 1.7	39 ± 8.2	17 ± 3.6	+
259	74 ± 0.7	44 ± 0.8	40 ± 7.6	23 ± 4.5	+
253	78 ± 0.4	59 ± 0.7	32 ± 6.6	9 ± 1.2	–
<i>A. japonica</i> <sup>1</sup>	58–60 <sup>1</sup>		35–70 <sup>2</sup>	18–24 <sup>2</sup>	+
<i>A. tenuissima</i> <sup>2</sup>	62–66 <sup>3</sup>		20–45	8–12	–

Примечание: <sup>1</sup>Nishikawa, Nakashima (2020); <sup>2</sup>Gannibal (2011); <sup>3</sup>Rahimloo, Ghosta (2015); <sup>4</sup>здесь и далее в таблицах приведены средние значения со стандартным отклонением ( $p = 0.05$ ).

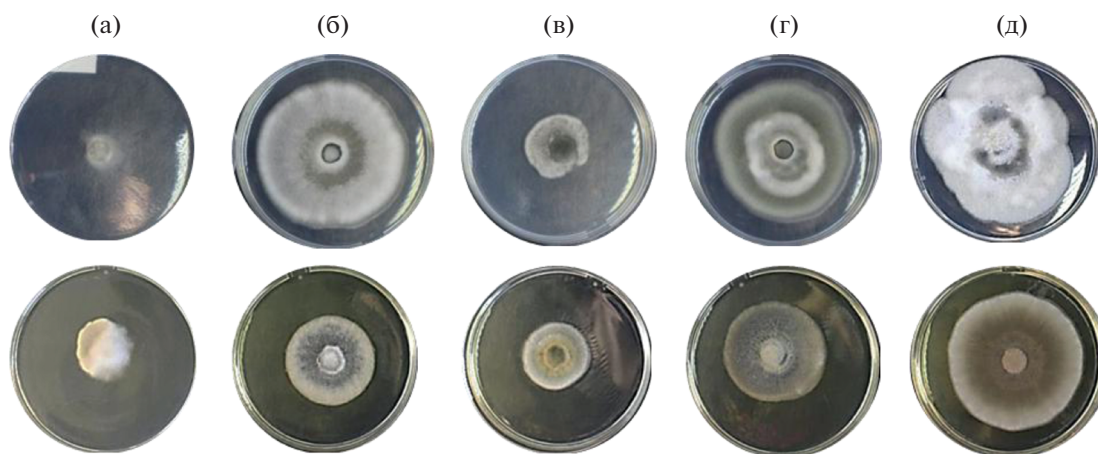
## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Видовая идентификация.** Анализ нуклеотидных последовательностей участка ITS (табл. 1) позволил отнести изученные штаммы к роду *Alternaria*. Сиквенсы участка EF1 $\alpha$  штаммов 181, 239, 244 и 259 (табл. 1) были высокомологичны (>99.7%) сиквенсам различных штаммов *A. japonica*, включая типовой штамм CBS 118390 (Woudenberg et al., 2013).

Наблюдали существенную вариабельность роста штаммов *Alternaria* spp. на агаризованных средах (табл. 2, рис. 1). Штаммы 181 и 244 *Alternaria japonica* отличались относительно медленным ростом на КМА (диаметр недельных колоний около 60 мм), тогда как штаммы 239, 259, 253 *A. japonica* и *A. tenuissima* росли быстрее (диаметр недельных колоний около 70–75 мм). На среде YES рост колоний *A. japonica* (181, 239, 244 и 259) был более слабым (35–45 мм) по сравнению с *A. tenuissima* 253 (60 мм).

На КМА цвет колоний изученных *Alternaria* spp. варьировал от беловатого до серовато-оливкового, на YES – также имел желтоватые оттенки в центре колоний. Заметных различий между изученными штаммами не обнаружено. На КМА колонии штаммов 239, 259, 253 характеризовались хорошо развитым воздушным мицелием, тогда как периферия колоний медленно растущих штаммов 181 и 244 имела паутинистый слабо развитый воздушный мицелий. На среде YES воздушный мицелий изученных микромицетов был хорошо развит без существенных различий между штаммами (рис. 1).

В культуре на КМА конидии *A. japonica* (181, 239, 244 и 259) образовывались в коротких цепочках (2–4 конидии) и были визуально крупнее (рис. 3), чем конидии *A. tenuissima* 253, которые образовывались в виде длинных цепочек. Длина корпуса конидий изученных *Alternaria* spp. варьировала в диапазоне 32–50 мм, различия между штаммами были несущественными. Ширина корпуса конидий *A. japonica* (181, 239, 244 и 259) была примерно



**Рис. 1.** Морфология недельных колоний *Alternaria japonica* (а – 181, б – 239, в – 244, г – 259) и *A. tenuissima* (д – 253) на КМА (верхний ряд) и YES (нижний ряд).



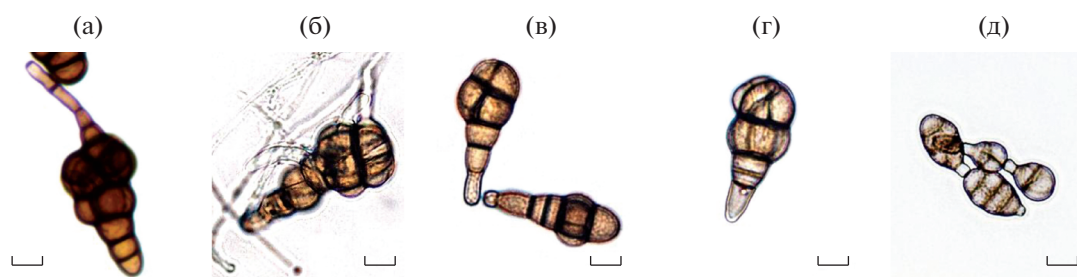


Рис. 2. Типичные конидии *Alternaria japonica* (а – 181, б – 239, в – 244, г – 259) и *A. tenuissima* (д – 253) при культивировании на КМА. Масштаб – 10 мкм.

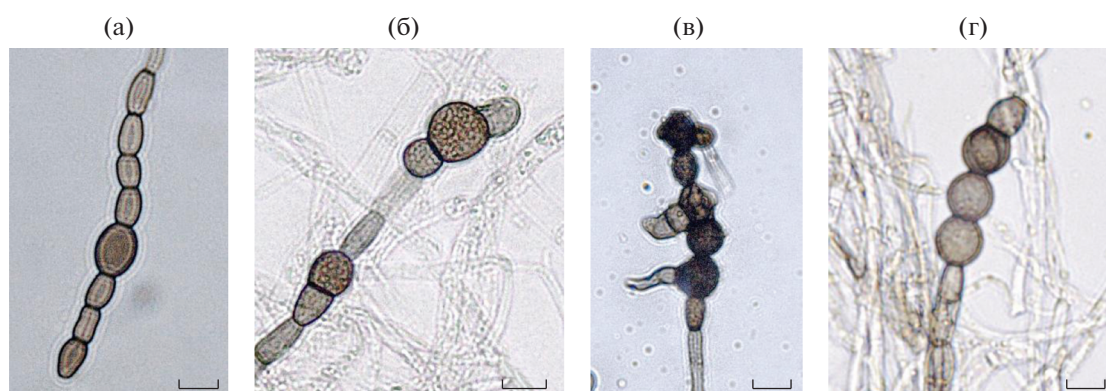


Рис. 3. Морфология хламидоспор *Alternaria japonica* на КМА (а – 181, б – 239, в – 244, г – 259). Масштаб – 10 мкм.

в 2 раза больше ширины корпуса конидий *A. tenuissima* 253 (табл. 2, рис. 2). В воздушном и субстратном мицелии *A. japonica* (181, 239, 244 и 259) обнаружены хламидоспоры – округлые или вытянутые темноокрашенные клетки в виде цепочек (рис. 3), в культуре штамма 253 хламидоспоры не выявлены (табл. 2).

Сопоставление совокупности полученных данных с информацией из литературы (табл. 2) позволило идентифицировать штаммы 181, 239, 244 и 259 как *A. japonica*.

**Выход биомассы и экстрактивных веществ.** Состав жидкой питательной среды оказал существенное влияние ( $P < 0.01$ ) на накопления биомассы изученных штаммов *A. japonica* и *A. tenuissima*. Наименее благоприятной для роста микромицетов была среда Чапека с витаминами (выход биомассы до 2 г/л). На более комплексной синтетической среде М1Д рост альтернариоидных грибов был существенно лучше (5.6–8.6 г/л). Примерно такой же уровень накопления биомассы наблюдали при культивировании грибов на полусинтетических средах ДМГ и Сабуро за исключением штамма 239 *A. japonica*, у которого выход биомассы на этих средах был относительно низким (2.5–3.7 г/л). В целом, поверхностный рост различных штаммов *A. japonica* на комплексных жидких питательных средах (М1Д, ДМГ и Сабуро) заметно варьировал, при этом уро-

вень накопления биомассы был ниже, чем у *A. tenuissima* 253 (табл. 3).

Выход экстрактивных веществ (ВЭВ) из культуральной жидкости изученных альтернариоидных грибов существенно зависел от всех изученных факторов на уровне  $p < 0.01$ : экстрагента, состава жидкой питательной среды и штамма гриба. В зависимости от состава среды ВЭВ из культуральной жидкости *A. japonica* при использовании этилацетата в качестве экстрагента был в 3–20 раз выше (на уровне 130–591 мг/л), чем ВЭВ при использовании хлористого метилена (5–115 мг/л). Выход липофильных метаболитов, извлекаемых из культуральной жидкости хлористым метиленом, был наиболее высоким (40–115 мг/л) при культивировании на полусинтетических средах ДМГ и Сабуро, тогда как при росте *A. japonica* на синтетических средах М1Д и ЧАВ он был низким (до 20 мг/л). Максимальный выход соединений, извлекаемых этилацетатом, выявлен при культивировании *A. japonica* на среде ДМГ (275–590 мг/л), тогда как при культивировании грибов на остальных средах ВЭВ в среднем был примерно на одном уровне 130–260 мг/л. Максимальный ВЭВ (80–100 мг/л) неполярной природы отмечен у штаммов 181 и 244 *A. japonica* при культивировании на ДМГ, максимальный выход этилацетатных экстрактов из культуральной жидкости (более 500 мг/л) от-

**Таблица 3.** Продуктивность изученных штаммов *Alternaria japonica* и *A. tenuissima* при культивировании на различных жидких питательных средах

Среда	Штамм	Сухая биомасса, г/л	Выход экстрактивных веществ, мг/л			
			Культуральная жидкость		Сухой мицелий	
			Хлористый метилен	Этилацетат	Гексан	Этилацетат
ЧАВ	181	1.7 ± 0.2	11.1 ± 0.8	200.2 ± 29.9	17.3 ± 6.7	16.1 ± 1.0
	239	1.7 ± 0.3	10.2 ± 3.0	266.6 ± 69.0	5.0 ± 1.2	7.2 ± 1.6
	244	1.9 ± 0.6	17.1 ± 4.7	226.2 ± 55.3	23.5 ± 8.8	6.8 ± 0.8
	259	1.8 ± 0.1	17.7 ± 13.7	242.9 ± 26.9	15.5 ± 7.4	22.0 ± 5.4
	253	2.0 ± 0.1	7.4 ± 0.5	208.1 ± 69.9	259.6 ± 6.0	8.1 ± 3.8
М1Д	181	7.1 ± 1.3	14.2 ± 4.9	155.7 ± 4.8	54.2 ± 3.5	51.6 ± 9.5
	239	5.6 ± 1.1	15.0 ± 8.1	180.1 ± 13.8	6.2 ± 2.4	15.3 ± 6.9
	244	7.3 ± 0.4	20.0 ± 6.3	159.1 ± 22.5	89.2 ± 28.7	110.3 ± 21.8
	259	5.9 ± 0.6	5.8 ± 2.8	202.0 ± 43.0	6.1 ± 1.8	39.7 ± 10.2
	253	8.6 ± 0.1	38.0 ± 3.2	595.1 ± 75.1	44.8 ± 4.6	95.8 ± 19.9
ДМГ	181	4.9 ± 1.8	43.5 ± 7.0	275.2 ± 35.0	149.3 ± 79.6	268.5 ± 136.4
	239	3.7 ± 0.1	46.6 ± 6.1	480.1 ± 75.0	9.0 ± 1.1	23.9 ± 6.8
	244	5.1 ± 0.6	67.9 ± 11.3	591.8 ± 90.4	151.6 ± 65.1	53.4 ± 12.1
	259	6.5 ± 1.4	47.2 ± 8.6	371.5 ± 75.8	74.9 ± 36.2	42.3 ± 7.9
	253	7.4 ± 0.5	35.6 ± 3.1	643.3 ± 165.8	30.1 ± 11.9	75.0 ± 10.0
Сабуро	181	7.7 ± 0.9	105.1 ± 16.2	192.7 ± 9.3	221.9 ± 13.7	234.9 ± 28.3
	239	2.5 ± 0.1	49.0 ± 10.8	130.9 ± 15.8	2.5 ± 0.5	8.8 ± 1.0
	244	5.8 ± 0.7	84.9 ± 8.3	188.3 ± 32.3	211.9 ± 71.8	82.1 ± 23.4
	259	6.4 ± 0.4	48.2 ± 9.5	222.4 ± 26.4	36.3 ± 2.2	71.7 ± 18.1
	253	8.5 ± 1.0	56.5 ± 17.1	506.9 ± 99.3	30.7 ± 1.5	111.7 ± 40.4
НСР <sub>0.05</sub>		1.29	26.4	106.4	47.0	

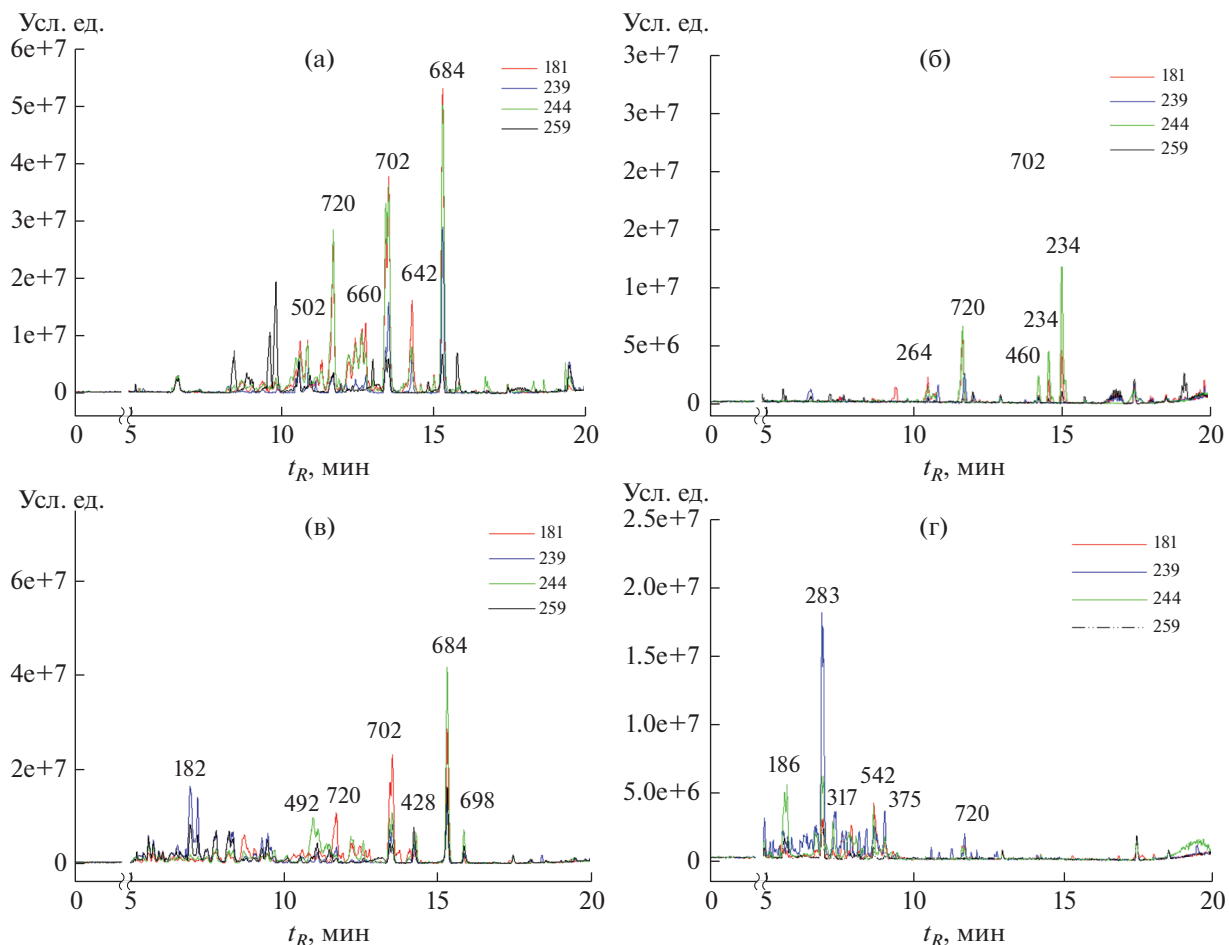
мечен у *A. japonica* 244 при культивировании на среде Сабуро (табл. 3).

Происхождение штамма гриба и состав жидкой питательной среды оказали достоверный эффект ( $p < 0.01$ ) на накопление их эндометаболитов, тогда как влияние экстрагента на ВЭВ из мицелия было несущественным. В целом, ВЭВ из мицелия *Alternaria* spp. был более высоким (примерно в 2 раза) при их культивировании на полусинтетических средах ДМГ и Сабуро, чем на синтетических средах ЧАВ и М1Д. Штамм 239 *A. japonica* отличался не только слабым ростом, но и низким уровнем накопления эндометаболитов (до 23 мг/л), тогда как штамм 181 *A. japonica* – максимальным ВЭВ (до 234 мг/л на среде Сабуро). Существенно меньше был ВЭВ экстрактов из мицелия *A. japonica* 244 и *A. tenuissima* 253 (табл. 3).

**Метаболитные профили экстрактов.** Анализ хроматограмм, полученных методом ВЭЖХ–МС, показал высокую степень схожести компонентного состава хлористометиленовых и этилацетатных экстрактов из культуральной жидкости, а также этилацетатных экстрактов из обезжиренного гек-

саном мицелия различных штаммов *A. japonica*. Примеры хроматограмм приведены на рис. 4. Гексановые экстракты имели бедный ВЭЖХ-профиль; их анализ методом нормально-фазовой ТСХ показал наличие неполярных соединений и высокое сходство компонентного состава, несмотря на штамм и вид гриба. В таблице 4 приведены некоторые физико-химические свойства компонентов экстрактов, характерных для изучаемых штаммов *A. japonica*.

Основными метаболитами хлористометиленовых экстрактов из культуральной жидкости *A. japonica* были пики с  $m/z$  721  $[M + H]^+$ , 576  $[M - 127]^+$  и 685  $[M + H]^+$ , соответствующие молекулярной массе веществ 720, 702 и 684 Да соответственно (табл. 4, рис. 4). Два последних соединения, очевидно, отличаются от первого на одну и две гидроксильные группы, что подтверждается их хроматографической подвижностью ( $t_R$  11.7, 13.6 и 15.3 мин). При этом, все они схожи фрагментным ионом  $[M - 127]^+$  и отсутствием поглощения в УФ. Соединение с молекулярной массой 684 Да может быть идентифицировано как брассициколин А, соединение с



**Рис. 4.** Типичные хроматограммы некоторых экстрактов из жидких культур различных штаммов *Alternaria japonica*, полученные методом ВЭЖХ–МС: а – хлористометиленовые экстракты из фильтрата культур на среде М1Д; б – этилацетатные экстракты из обезжиренного мицелия из культур на среде М1Д; в – хлористометиленовые экстракты из фильтрата культур на среде Сабуро; г – этилацетатные экстракты из фильтрата культур на среде Сабуро. Над мажорными пиками указаны молекулярные массы соответствующих веществ.

молекулярной массой 720 Да – как дигидробрассициколин А, – метаболиты гриба *A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire (Gloer et al., 1988; Pedras, Park, 2015).

В этилацетатных экстрактах из культуральной жидкости *A. japonica* мажорными были метаболиты с молекулярной массой 186 ( $t_R$  5.4 мин), 283 ( $t_R$  7.0 мин), 542 ( $t_R$  8.7 мин), 520 ( $t_R$  9.5 мин), 459 Да ( $t_R$  14.3 мин,  $m/z$  415  $[M - 45]^+$ , 460  $[M + H]^+$ ). В этилацетатных экстрактах обезжиренного мицелия из культуральной жидкости преобладали уже отмеченные соединения с  $m/z$  721 и 415, а также два вещества с  $m/z$  235  $[M + H]^+$  ( $t_R$  14.6 и 15.0 мин), характеризующиеся в УФ-спектре несколькими полосами поглощения в диапазоне 220–225, 255–260 и 330–340 нм. Эти два соединения с молекулярной массой 234 Да могут быть идентифицированы как фоменин А (= фомапирон А) и фоменин Б, известные у *A. brassicicola*, *A. infectoria* E.G. Simmons, *Phoma lingam* (Tode)

Desm. и *Ph. tracheiphila* (Petri) L.A. Kantsch. et Gikaschvili (Tringali et al., 1993; Pedras et al., 1999; Ivanova et al., 2010; Pedras, Park, 2015).

Окончательную идентификацию четырех указанных соединений (брассициколина А, дигидробрассициколина А, фоменинов А и Б) в экстрактах *Alternaria japonica* можно провести с использованием аналитических стандартов либо дополнительных спектральных методов после очистки (рис. 5). Другие метаболиты *A. japonica* нами не идентифицированы.

В экстрактах *A. tenuissima* 253 выявлены ряд известных микотоксинов – тентоксин, дигидротентоксин, тенуазоновая кислота, метиловый эфир альтернариола (соединения с молекулярной массой 414, 416, 197, 272 Да, соответственно), а также соединения, предположительно относящиеся к группе меротерпеноидов, такие как АСТГ-токсины и трициклоальтенарены (пики веществ с молекулярной массой 320, 344, 348, 362, 376 Да), точная

**Таблица 4.** Физико-химическая характеристика компонентов экстрактов *Alternaria japonica*

Характеристики хроматографического пика			Штамм	Среда: способ получения экстракта <sup>4</sup>
t <sub>R</sub> , мин	m/z <sup>1</sup>	УФ λ макс, нм		
5.4	187	— <sup>2</sup>	181, 244, 259	ДМГ и ЧАВ: КЖ/ЭА
7	284	277	181, 239, 244, 259	Сабуро: КЖ/ЭА
7.4	318	271	181, 239, 244	Сабуро: КЖ/ЭА
7.7	501	—	181, 239, 244, 259	ДМГ и Сабуро: КЖ/ЭА
8.1	198	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д и Сабуро: М/Г
8.7	543	—	181, 239	ДМГ, Сабуро: КЖ/ЭА
9.1	269	273, 318	239, 244, 259	ЧАВ: КЖ/ХМ
9.5	521	—	181, 239, 244, 259	ДМГ: КЖ/ХМ
9.7	461	—	181, 239, 244, 259	ДМГ: КЖ/ХМ
9.8	223	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ: КЖ/ХМ, М1Д: М/Г
10.6	503	—	181, 239, 244, 259	М1Д, ДМГ, Сабуро: КЖ/ХМ
11.7	721	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д, ДМГ: КЖ/ХМ М1Д, ДМГ, Сабуро: КЖ/ЭА, ЧАВ, М1Д, ДМГ Сабуро: М/ЭА
12.3	603	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д, ДМГ, Сабуро: КЖ/ХМ
12.7	661	—	181, 239, 244, 259	М1Д, ДМГ: КЖ/ХМ
13.6	576 <sup>2</sup>	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д, ДМГ, Сабуро: КЖ/ХМ, Сабуро М/ЭА
14.2	429	—	181, 239, 244, 259	Сабуро: КЖ/ХМ
14.3	415 <sup>3</sup>	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д, ДМГ, Сабуро: КЖ/ЭА, М1Д М/ЭА
14.3	643	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д, ДМГ: КЖ/ХМ,
14.6	235	220, 265, 323	239, 244, 259	ЧАВ: КЖ/ХМ, ЧАВ: М/Г, ЧАВ, М1Д: М/ЭА
15.0	235	220, 260, 348	181, 239, 244, 259	ЧАВ: КЖ/ХМ, ЧАВ: М/Г, ЧАВ, М1Д: М/ЭА
15.3	685	—	181, 239, 244, 259	ЧАВ, М1Д, ДМГ, Сабуро: КЖ/ХМ
15.9	699	—	181, 239, 244, 259	ДМГ, Сабуро: КЖ/ХМ

Примечание: <sup>1</sup>m/z доминирующего в пике иона, представляющего протонированный молекулярный ион, за исключением <sup>2</sup>m/z 576 [M - 127]<sup>+</sup>, m/z 703 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>3</sup>m/z 415 [M - 45]<sup>+</sup>, m/z 460 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>4</sup>М – мицелий, КЖ – культуральная жидкость, Г – гексан, ХМ – хлористый метилен, ЭА – этилацетат.

идентификация которых затруднена из-за наличия изомеров (Kono et al., 1986; Liebermann et al., 1997; Ostry, 2008; Wang et al., 2019). Эти метаболиты не были обнаружены даже в качестве минорных в экстрактах различных штаммов *A. japonica*.

**Фитотоксическая активность.** Изученные экстракты из фильтрата жидких культур, использованных в работе *Alternaria* spp., проявили фитотоксическую активность при тестировании на листьях редиса. В целом, независимо от состава среды и экстрагента экстракты из культуральной жидкости *A. tenuissima* 253 (при p = 0.05), были достоверно более фитотоксичными, чем экстракты штаммов *A. japonica*. По данным ВЭЖХ–МС высокотоксичные этилацетатные экстракты из культуральной жидкости *A. tenuissima* 253 содержали преимущественно теназуоновую кислоту (культуры на М1Д, ДМГ), в хлористометиленовых экс-

трактах гриба на М1Д обнаружена сложная смесь неидентифицированных веществ (рис. 6а).

По данным дисперсионного анализа происхождение штамма *A. japonica* не оказывало существенного влияния на фитотоксичность экстрактов из культуральной жидкости. Достоверный эффект (p < 0.01) на этот параметр оказывали состав среды и экстрагент. В целом фитотоксическая активность экстрактов из фильтрата культур на синтетических средах была выше (примерно в 1.2 раза), чем фитотоксичность экстрактов, полученных из культуральной жидкости грибов, выращенных на полусинтетических средах. Этилацетатные экстракты из культуральной жидкости *A. japonica* были в среднем на 25% более токсичными, чем хлористометиленовые. Взаимодействие факторов “среда” и “экстрагент” было несущественным (p = 0.08), тогда как остальные взаи-

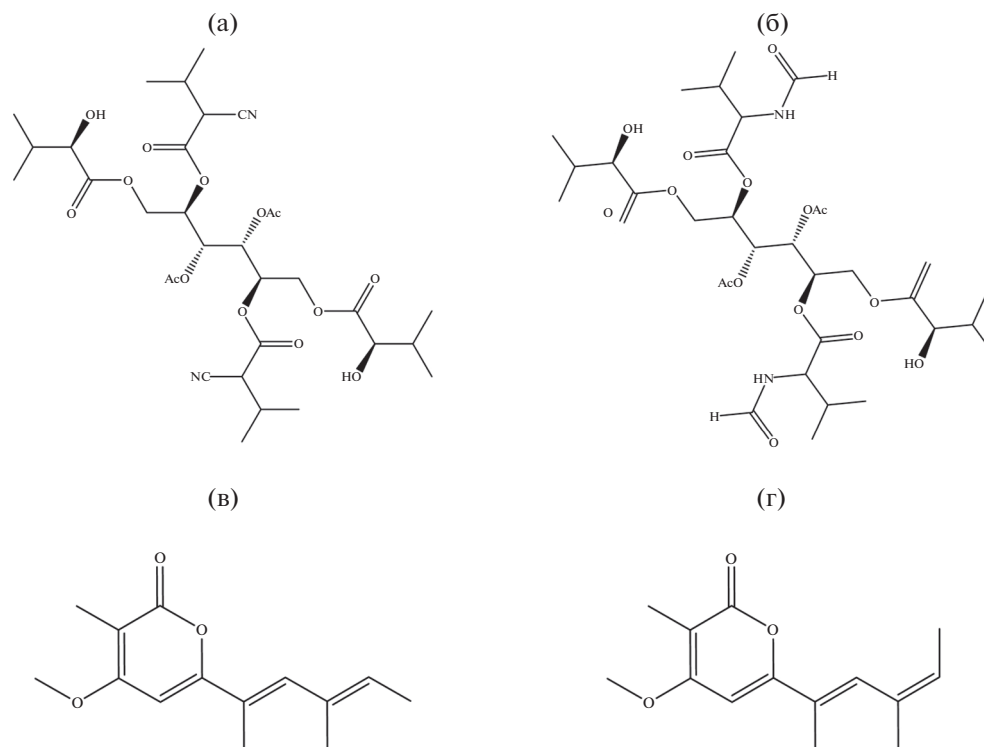


Рис. 5. Структура метаболитов, идентифицированных в экстрактах *A. japonica*: а – брассициколин А; б – дигидробрассициколин А; в – фоменин А, г – фоменин Б.

модействия экспериментальных факторов были достоверными ( $p < 0.01$ ).

Среди экстрактов *A. japonica* максимальную фитотоксичность (диаметр некроза около 4.7–5 мм) показали хлористометиленовые и этилацетатные экстракты из фильтрата культур соответственно штаммов 239 и 244, выращенных на синтетических средах ЧАВ и М1Д. При культивировании на полусинтетических средах (в частности, на среде Сабуро), на которых обнаружен высокий выход экстрактивных веществ, максимальную токсичность показали этилацетатные экстракты из культуральной жидкости штаммов 244 и 259 (табл. 5).

Гексановые экстракты из мицелия изученных грибов были нефитотоксичными, тогда как некоторые этилацетатные экстракты проявили слабую фитотоксическую активность, среди которых преимущественно были экстракты из мицелия *A. tenuissima* 253 (табл. 5).

**Цитотоксичность.** С использованием одноклеточного организма *Paramecium caudatum* оценили цитотоксичность метаболитных комплексов *Alternaria japonica*. Хлористометиленовые экстракты из культуральной жидкости изученных грибов были нетоксичными или проявили лишь слабую цитотоксичность (экстракты из фильтрата жидких культур штаммов 239 и 259 на среде М1Д). Слабую токсичность проявили также хлористометиленовые экстракты *A. tenuissima* 253 на М1Д, ДМГ и

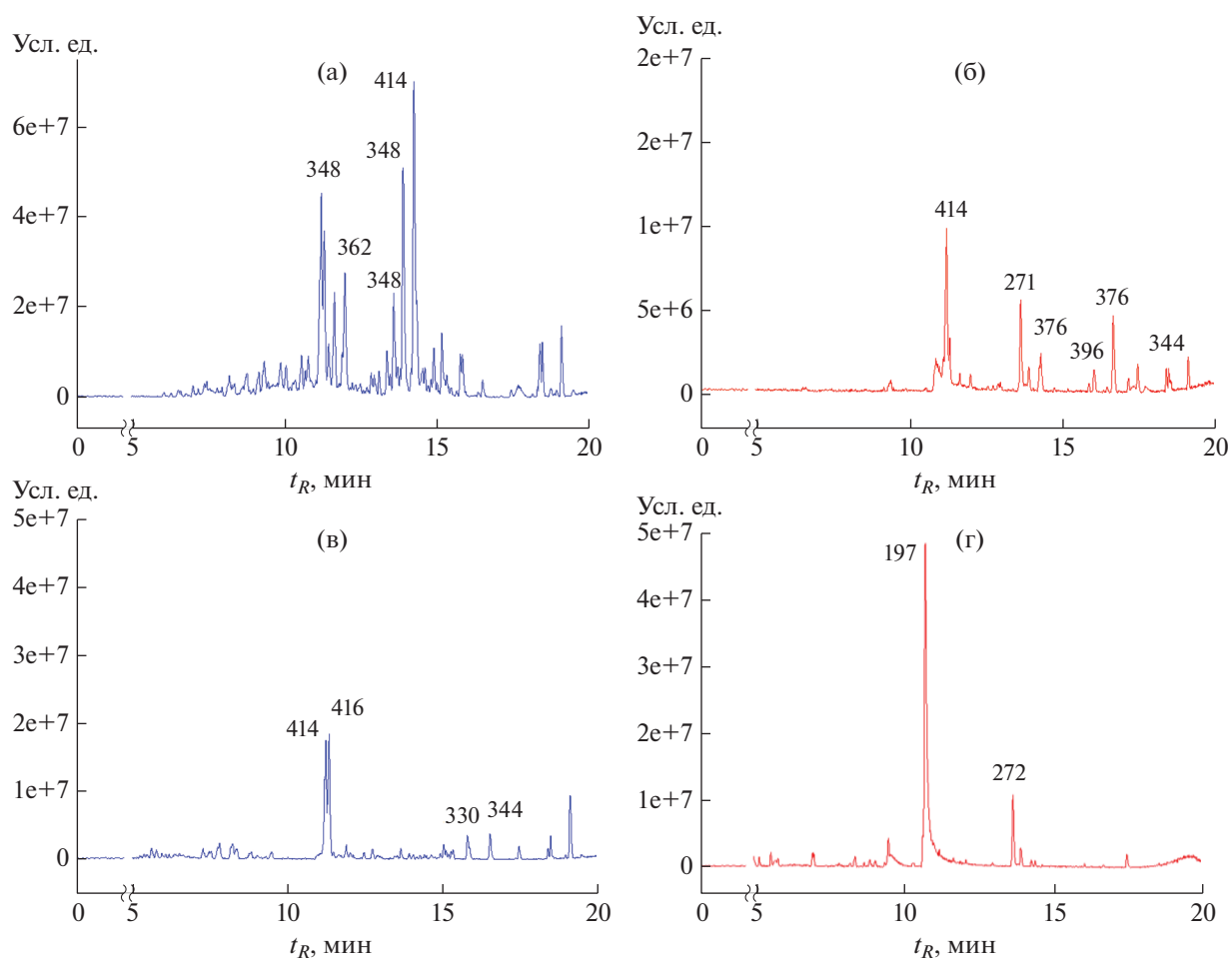
среде Сабуро. Этилацетатные экстракты *Alternaria* spp. в исследованной концентрации были нетоксичными (табл. 6).

Экстракты, полученные гексаном из высушенного мицелия изученных грибов, не проявили цитотоксичности или проявили лишь слабую активность (из мицелия жидкой культуры штаммов 181 и 259 *A. japonica* на ЧАВ, 239 – на среде Сабуро). Гексановые экстракты из мицелия *A. tenuissima* 253 также проявили преимущественно слабую степень цитотоксичности: среднюю – при культивировании на среде Сабуро, слабую – на ЧАВ, остальные экстракты были нетоксичными (табл. 6).

Этилацетатные экстракты из мицелия *Alternaria* spp. были высокотоксичными в исследуемой концентрации. Некоторые из них проявили острую токсичность, вызывая немедленную гибель инфузорий, как, например, экстракты из мицелия *A. japonica* 259 из культур, выращенных на синтетических средах ЧАВ и М1Д, а также 239 – на среде Сабуро. Этилацетатные экстракты из мицелия *A. tenuissima* 253 также были высокотоксичными в отношении инфузории-туфельки (табл. 6).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение, очистка и идентификация природных биологически активных веществ (БАВ) – длительный, трудоемкий и дорогостоящий про-



**Рис. 6.** Хроматограммы некоторых экстрактов из жидких культур *Alternaria tenuissima* 253, полученные методом ВЭЖХ–МС: а – хлористометиленовые экстракты из фильтрата культур на среде М1Д; б – этилацетатные экстракты из обезжиренного мицелия из культур на среде М1Д; в – хлористометиленовые экстракты из фильтрата культур на среде Сабуро, г – этилацетатные экстракты из фильтрата культур на среде Сабуро.

цесс. Для того, чтобы избежать “бесмысленной” работы, результатом которой являются уже известные и хорошо охарактеризованные соединения, необходима точная видовая идентификация потенциальных продуцентов БАВ и анализ их метаболического профиля. Это позволяет на основе направленного поиска данных литературы по метаболитам родственных организмов предварительно идентифицировать вещества в экстрактах продуцента-кандидата и предсказывать перспективность обнаружения новых соединений.

Несмотря на наличие у *A. japonica* таких отличительных признаков как замедленный рост на агаризованных питательных средах, спороношение в виде коротких неразветвленных цепочек конидий и образование хламидоспор, из-за высокого уровня изменчивости микромицетов использование только морфологических параметров может привести к ошибочной видовой идентификации. Так, диаметр и морфология недельных колоний некоторых штаммов *A. japonica* на среде КМА, а

также длина их конидий перекрывалась с этими показателями альтернариоидных грибов секции *Alternaria*, в частности, *A. tenuissima* 253 (табл. 2). Молекулярно-генетический метод, основанный на анализе таксономически значимых последовательностей ДНК, хорошо дифференцирует *A. japonica* от других *Alternaria* spp. (Woudenberg et al., 2013; Siciliano et al., 2017; Nishikawa, Nakashima, 2020). В данной работе анализ участка гена EF1 $\alpha$  позволил уверенно отнести изучаемые штаммы 181, 239, 244 и 259 к *A. japonica*.

Сравнительный анализ метаболических профилей экстрактов из культур изучаемых культур, полученных на различных жидких питательных средах, показал, что *A. japonica* не образует характерные микотоксины мелкоспоровых *Alternaria* spp. секции *Alternaria*, в частности: альтернариол, его монометилловый эфир, тенуазоновую кислоту, тентоксин и альтенуен. При этом в культурах *A. tenuissima* 253 эти микотоксины были обнаружены. Таким образом, *A. japonica* и *A. tenuissima* различа-



**Таблица 5.** Фитотоксическая активность 0.5%-х экстрактов из культур штаммов *Alternaria japonica* и *A. tenuissima* при культивировании на различных жидких питательных средах на листьях редиса

Среда	Штамм	Диаметр некроза, мм			
		Культуральная жидкость <sup>1</sup>		Сухой мицелий	
		хлористый метилен	этилацетат	гексан	этилацетат
ЧАВ	181	3.2 ± 0.8	3.5 ± 0.5	0	0
	239	4.8 ± 0.8	4.5 ± 0.5	0	0
	244	3.2 ± 1.2	4.7 ± 0.5	0	3.2 ± 0.8
	259	2.2 ± 1.2	4.7 ± 0.5	0	0
	253	5.0 ± 0.6	4.7 ± 0.5	0	1.8 ± 0.4
М1Д	181	4.3 ± 1.0	3.8 ± 2.0	0	0
	239	4.8 ± 2.5	3.8 ± 1.3	0	1.5 ± 1.0
	244	1.2 ± 1.0	5.0 ± 0.9	0	0
	259	3.3 ± 0.5	4.5 ± 0.5	0	0
	253	5.7 ± 0.8	5.5 ± 1.0	0	1.2 ± 0.8
ДМГ	181	3.3 ± 1.5	2.1 ± 1.0	0	0
	239	2.3 ± 1.9	3.2 ± 1.5	0	0
	244	1.5 ± 1.0	3.5 ± 1.0	0	0
	259	3.3 ± 1.2	4.2 ± 1.0	0	0
	253	2.3 ± 0.8	6.3 ± 2.2	0	0
Сабуро	181	2.5 ± 0.8	2.5 ± 1.4	0	0
	239	2.8 ± 1.0	3.3 ± 2.0	0	0
	244	3.3 ± 1.4	4.5 ± 0.8	0	0
	259	3.2 ± 1.0	4.5 ± 1.2	0	0
	253	4.0 ± 1.3	4.3 ± 0.5	0	1.3 ± 0.5

Примечание: <sup>1</sup>НСР<sub>0,05</sub> = 1.4.

ются также и по составу образуемых метаболитов. Результаты нашего исследования подтвердили эффективность использования полифазного подхода, основанного на анализе комплекса морфологических, молекулярно-генетических и хемотаксономических данных, для дифференциации видов рода *Alternaria* (Andersen et al., 2008; Da Cruz Cabral et al., 2017; Iturrieta-González et al., 2020). Обнаружение рядом авторов указанных микотоксинов в культурах *A. japonica* с высокой долей вероятности связано с неправильной видовой идентификацией рабочих штаммов.

К настоящему моменту токсические свойства метаболитов *A. japonica* только начинают изучаться: получены первые данные по фитотоксичности, цитотоксичности, а также акарицидной и инсектицидной активности экстрактов *A. japonica* MFP181011, полученных из культур на среде ДМГ (Berestetskiy et al., 2018, 2019). В представленной работе показано, что экстракты из культуральной жидкости всех четырех изученных штаммов *A. japonica* были фитотоксичными для листьев редиса, но нетоксичными или слаботоксичными для инфузории-туфельки. Этилацетатные экстракты из

мицелия различных штаммов *A. japonica*, напротив, проявили высокий уровень цитотоксичности — на уровне экстрактов из культур *A. tenuissima* 253.

Культуры одноклеточных простейших, таких как инфузории, используются как индикаторы загрязненности кормов и воды ксенобиотиками, а также как биомаркеры токсичности пестицидов, микотоксинов и метаболитов продуцентов биопестицидов (Altomare et al., 2012; Andreev et al., 2019). Данных по действию микотоксинов грибов *Alternaria* на инфузории недостаточно. Известно, что мицелиальные экстракты и культуральная жидкость *A. alternata* (Fr.) Keissl. токсичны для клеток *Paramecium caudatum* (Domsch et al., 2007; Pankova et al., 2018). С другой стороны, более десяти поликетидных метаболитов, выделенных из твердой культуры *A. sonchi* J.J. Davis, были нетоксичными для инфузурий (Dalnova et al., 2020).

На основании анализа ряда физико-химических характеристик (хроматографическая подвижность, УФ и масс-спектры) и данных литературы в экстрактах *A. japonica* идентифицированы некоторые мажорные метаболиты, характерные для *A. brassicicola* и *A. infectoria*: брассициколин А,

**Таблица 6.** Токсичность 0.01%-х экстрактов из культур штаммов *Alternaria japonica* и *A. tenuissima* при культивировании на различных жидких питательных средах в отношении *Paramecium caudatum*

Среда	Штамм	Степень токсичности экстрактов			
		Культуральная жидкость		Сухой мицелий	
		хлористый метилен	этилацетат	гексан	этилацетат
ЧАВ	181	—	—	+	++
	239	—	—	—	+
	244	—	—	—	+
	259	—	—	+	+++
	253	—	—	+	+++
М1Д	181	—	—	—	++
	239	+	—	—	++
	244	—	—	—	++
	259	+	—	—	+++
	253	+	—	—	++
ДМГ	181	—	—	—	++
	239	—	—	—	++
	244	—	—	—	++
	259	—	—	—	++
	253	+	—	—	++
Сабуро	181	—	—	—	++
	239	—	—	++	+++
	244	—	—	—	++
	259	—	—	—	++
	253	+	—	++	++

Примечание: “—” – через 180 мин инкубации клетки сохранили подвижность; “+” – гибель 100% клеток через 180 мин инкубации; “++” – через 30 мин; “+++” – через 3 мин. В контроле инфузории сохраняли 100%-ю жизнеспособность не менее 3 ч.

дигидробрассициколин А, фоменин А (= фомапирон А) и фоменин Б. Известно, что брассициколин А обладает фитотоксическими свойствами в отношении горчицы *Brassica juncea* (Pedras et al., 2009). Данные по фитотоксичности фоменинов пока противоречивы: фоменин А вызывал увядание срезанных стеблей томатов в концентрации 200 мкг/мл, в то время как фоменины А и Б были нетоксичны для листьев крестоцветных. При этом, фоменины А и Б токсичны для рачков вида *Artemia salina* с ЛД<sub>50</sub> 38 и 31 мкг/мл соответственно (Tringali et al., 1993; Pedras, Yu, 2009). Смесь фоменинов А и Б в соотношении 10 : 1 обладала слабой токсичностью в отношении линии клеток человека MRC-5 (Ivanova et al., 2010); структурно близкие пироны из *Xylaria hypoxylon* – слабой цитотоксичностью (ЛД<sub>50</sub> > 50 мкг/мл) в отношении ряда линий опухолевых клеток человека (Schüffler et al., 2007). Таким образом, можно предположить, что фитотоксические свойства хлористометиленовых экстрактов из культуральной жидкости *Alternaria japonica* могут быть частично обусловлены доминирующим в них брассициколином А, а токсичность этилацетатных экстрактов из мицелия в отношении инфузорий – за счет фоменинов А и Б.

В экстрактах гриба осталось много неидентифицированных минорных соединений, которые, обладая биологической активностью, также могут играть определенную роль в развитии их продуцента. Вполне вероятно, что они могут являться родственными структурами обнаруженных веществ из групп изоцианидов и пиранов: об этом свидетельствуют как молекулярные массы хроматографических пиков, так и УФ-спектры (табл. 4). Как уже упоминалось выше, экстракты *A. japonica* обладают инсектицидной и акарицидной активностью. В связи с этим, в дальнейшей работе представляется интересным выделение и очистка известных и неидентифицированных метаболитов этого гриба с последующим определением спектра их биологической активности, включая биотесты с использованием различных видов членистоногих.



Выход экстрактивных веществ из культуральной жидкости и мицелия, комплексность и состав полученных экстрактов определяют объем питательной среды, а также перспективность препаративного выделения и очистки БАВ из культур микромицетов. В данном исследовании показано, что выход хлористометиленовых экстрактов из фильтрата культур *A. japonica* на синтетических питательных средах (ЧАВ и М1Д) достаточно низкий (около 20 мг/л); при культивировании штаммов *A. japonica* на полусинтетических питательных средах ДМГ и Сабуро 2–4 раза выше (до 100 мг/л). Выход этилацетатных экстрактов, в которых содержатся неидентифицированные нами соединения, был выше – на уровне около 200 мг/л. Таким невысоким выходом экстрактивных веществ при культивировании на жидких питательных средах характеризуется и *A. brassicicola*. Так, для выделения минорных метаболитов этого гриба объем питательной среды достигал 50 л, мажорных – 20 л (Pedras et al., 2009; Pedras, Park, 2015; Hu et al., 2018). Поскольку гексановые экстракты из мицелия *A. japonica* не проявили заметной биологической активности, обработку этим растворителем можно включить как стадию его обезжиривания. Как показали данные по выходу экзометаболитов и оценке фитотоксичности экстрактов для получения брассициколина А и неизвестных более полярных соединений из культуральной жидкости, может быть использован штамм 244 *A. japonica* при его культивировании на среде Сабуро. Этот же штамм может быть потенциальным продуцентом фоменинов при культивировании на среде М1Д, на которой выход эндометаболитов достигал уровня 100 мг/л среды.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе полифазного подхода – оценки комплекса морфологических признаков, анализа молекулярных и хемотаксономических данных идентифицировано 4 российских штамма *A. japonica*. Показано, что экстракты из культур этих грибов обладают фитотоксической активностью в отношении листьев редиса и цитотоксичностью в отношении клеток инфузории-туфельки на уровне действия экстрактов гриба *A. tenuissima*. В экстрактах *A. japonica* идентифицированы известные у некоторых видов рода *Alternaria* брассициколин А, дигидробрассициколин А, фоменин А и фоменин Б. Выявленные у *A. tenuissima* микотоксины (альтернариол, его метиловый эфир, тентоксин, тенуазоновая кислота, альтенуен) в культурах штаммов *A. japonica* не обнаружены. Анализ токсичности экстрактов и выхода экстрактивных веществ у различных штаммов *A. japonica* показал, что штамм 244 (MFP244011) может быть использован для продукции как известных, так и предположительно новых токсинов при культивировании на синтетической среде М1Д и полусинтетических

жидких питательных средах (например, среде Сабуро).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90181. Благодарим студента Санкт-Петербургского технологического института А.С. Золотухину за существенную помощь в работе.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Al-lami H.F.D., You M.P., Barbetti M.J.* Incidence, pathogenicity and diversity of *Alternaria* spp. associated with *Alternaria* leaf spot of canola (*Brassica napus*) in Australia. *Plant Pathol.* 2018. V. 68 (3). P. 492–503. <https://doi.org/10.1111/ppa.12955>
- Al-lami H.F.D., You M.P., Barbetti M.J.* Role of foliage component and host age on severity of *Alternaria* leaf spot (caused by *Alternaria japonica* and *A. brassicae*) in canola (*Brassica napus*) and mustard (*B. juncea*) and yield loss in canola. *Crop Pasture Sci.* 2019a. V. 70 (11). P. 969–980. <https://doi.org/10.1071/CP19262>
- Al-lami H.F.D., You M.P., Mohammed A.E. et al.* Virulence variability across the *Alternaria* spp. population determines incidence and severity of *Alternaria* leaf spot on rapeseed. *Plant Pathol.* 2019b. V. 69 (3). P. 506–517. <https://doi.org/10.1111/ppa.13135>
- Altomare C., Pernfuss B., Strasser H.* Assessing potential cytotoxicity of biocontrol microorganisms using invertebrate assays beneficial microorganisms in agriculture, food and the environment. In: *Sundh I., Wilcks A., Goettel M.S.* (eds.). *Beneficial microorganisms in agriculture, food and the environment: Safety assessment and regulation.* CAB International, Wallingford, 2012, pp. 240–255.
- Andersen B., Dongo A., Pryor B.M.* Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani*, and *A. tomatophila*. *Mycol. Res.* 2008. V. 112 (2). P. 241–250.
- Andreev V.A., Andreeva E.Yu., Erdniyev L.P. et al.* Using the *Paramecium caudatum* test object to determine acute toxicity of physiologically active substances. *Vestnik voenno-meditsinskoy akademii.* 2019. V. 66 (2). P. 110–113. <https://doi.org/> (in Russ.). <https://doi.org/10.17816/brrmma25929>
- Berestetskiy A.O., Dalinova A.A., Dubovik V.R. et al.* Analysis and isolation of secondary metabolites of *Bipolaris sorokiniana* by different chromatography techniques and the spectrum of their biological activity. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2020. V. 56 (5). P. 483–496 (in Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0555109920050050>
- Berestetskiy A.O., Gannibal Ph.B., Minkovich E.V. et al.* Spectrum of biological activity of the *Alternaria* fungi isolated from the phyllosphere of herbaceous plants. *Mikrobiologiya.* 2018. V. 87 (6). P. 706–717. (in Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0026261718060036>
- Berestetskiy A.O., Inyusheva V.V., Petrova M.O. et al.* Insecticidal, acaricidal, and cytotoxic activity of extracts from some phyllosphere fungi and soil hypocrealean microfungi. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2019. V. 53 (1). P. 17–25 (in Russ.). <https://doi.org/10.1134/s0026364819010033>

- Blagojević J.D., Vukojević J.B., Ivanović Ž.S. Occurrence and characterization of *Alternaria* species associated with leaf spot disease in rapeseed in Serbia. *Plant Pathol.* 2020. V. 69 (5). P. 883–900.  
<https://doi.org/10.1111/ppa.13168>
- Corlett M., Corlett M.E. *Alternaria japonica*. *Can. J. Plant Pathol.* 1999. V. 21 (3). P. 298–300.
- Da Cruz Cabral L., Rodriguero M., Stenglein S. et al. Characterization of small-spored *Alternaria* from Argentinean crops through a polyphasic approach. *Int. J. Food Microbiol.* 2017. V. 257. P. 206–215.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.026>
- Dalinova A.A., Salimova D.R., Berestetskiy A.O. *Alternaria* fungi as producers of biologically active compounds and bioherbicides. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2020. V. 56 (3). P. 223–241 (in Russ.).  
<https://doi.org/10.31857/S0555109920030022>
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. *Compendium of soil fungi*. IHW-Verlag, Eching, 2007.
- Dutta W., Ray D., Ray P. Molecular characterization and host range studies of indigenous fungus as prospective mycoherbicidal agent of water hyacinth. *Indian J. Weed Sci.* 2015. V. 47 (1). P. 59–65.
- Gannibal Ph.B. Monitoring of alternarioses of crops and identification of fungi of the genus *Alternaria*. VIZR, St. Petersburg, 2011 (in Russ.).
- Gannibal Ph.B. Species of the genus *Alternaria* revealed in Russia and some neighboring territories. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2015. V. 49 (6). P. 374–385 (in Russ.).
- Gilardi G., Demarchi S., Ortu G. et al. Occurrence of *Alternaria japonica* on seeds of wild and cultivated rocket. *J. Phytopathol.* 2014. V. 163 (5). P. 419–422.  
<https://doi.org/10.1111/jph.12292>
- Gilardi G., Gullino M.L., Garibaldi A. Emerging foliar and soil-borne pathogens of leafy vegetable crops: a possible threat to Europe. *EPP0 Bulletin*. 2018. V. 48 (1). P. 116–127.  
<https://doi.org/10.1111/epp.12447>
- Gloer J.B., Poch G.K., Short D.M. et al. Structure of brassicicolin A: a novel isocyanide antibiotic from the phylloplane fungus *Alternaria brassicicola*. *J. Org. Chem.* 1988. V. 53 (16). P. 3758–3761.  
<https://doi.org/10.1021/jo00251a017>
- Hu Z., Sun W., Li F. et al. Fusicoccane-derived diterpenoids from *Alternaria brassicicola*: investigation of the structure-stability relationship and discovery of an IKKB inhibitor. *Org. Lett.* 2018. V. 20 (17). P. 5198–5202.  
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b02137>
- Iturrieta-González I., Pujol I., Iftime S. et al. Polyphasic identification of three new species in *Alternaria* section *Infectoriae* causing human cutaneous infection. *Mycoses*. 2020. V. 63. P. 212–224.
- Ivanova L., Petersen D., Uhlig S. Phomenins and fatty acids from *Alternaria infectoria*. *Toxicon*. 2010. V. 55 (6). P. 1107–1114.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.12.017>
- Javaid A., Khan I. H., Jabeen K. et al. Evaluation of mycochemical profile of *Alternaria japonica* through GC-MS analysis. *Pakistan J. Phytopathol.* 2019. V. 31 (2). P. 171–175.  
<https://doi.org/10.33866/phytopathol.031.02.0537>
- Javaid A., Mubeen T., Bashir U. et al. Management of Parthenium weed using metabolites of *Alternaria japonica*. *Planta Daninha*. 2017. V. 35.  
<https://doi.org/10.1590/s0100-83582017350100016>
- Kono Y., Gardner J. M., Takeuchi S. Structure of the host-selective toxins produced by a pathotype of *Alternaria citri* causing brown spot disease of mandarins. *Agr. Biol. Chem.* 1986. V. 50 (3). P. 801–804.  
<https://doi.org/10.1271/abb1961.50.801>
- Liebermann B., Ellinger R., Günther W. et al. Tricycloaltemarenones produced by *Alternaria alternata* related to ACTG-toxins. *Phytochemistry*. 1997. V. 46 (2). P. 297–303.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00278-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00278-1)
- Lou J., Fu L., Peng Y. et al. Metabolites from *Alternaria* fungi and their bioactivities. *Molecules*. 2013. V. 18 (5). P. 5891–5935.  
<https://doi.org/10.3390/molecules18055891>
- Nishikawa J., Nakashima C. Japanese species of *Alternaria* and their species boundaries based on host range. *Plant Fungal. Syst.* 2020. V. 5. P. 197–281.  
<https://doi.org/10.3114/fuse.2020.05.13>
- Ostry V. *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin J.* 2008. V. 1 (2). P. 175–188.  
<https://doi.org/10.3920/WMJ2008.x013>
- Pankova A.V., Valiullin L.R., Afordoanyi D.V. et al. Identification of phytotoxic and phytopathogenic fungi on grains and wheat seedlings. In: International scientific and practical conference “AgroSMART – Smart solutions for agriculture”. Tyumen, 2018. P. 759–765.  
<https://doi.org/10.2991/agrosmart-18.2018.142>
- Pedras M.S., Erosa-López C.C., Quail J.W. et al. Phomalairdenone: a new host-selective phytotoxin from a virulent type of the blackleg fungus *Phoma lingam*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999. V. 9 (23). P. 3291–3294.  
[https://doi.org/10.1016/s0960-894x\(99\)00602-2](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(99)00602-2)
- Pedras M.S.C., Yu Y. Phytotoxins, elicitors and other secondary metabolites from phytopathogenic “blackleg” fungi: structure, phytotoxicity and biosynthesis. *Nat. Prod. Commun.* 2009. V. 4 (9). P. 1291–1304.  
<https://doi.org/10.1177%2F1934578X0900400927>
- Pedras M.S.C., Park M.R. Metabolite diversity in the plant pathogen *Alternaria brassicicola*: factors affecting production of brassicicolin A, depudecin, phomapyrone A and other metabolites. *Mycologia*. 2015. V. 107 (6). P. 1138–1150.  
<https://doi.org/10.3852/15-054>
- Pluskal T., Castillo S., Villar-Briones A. et al. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC Bioinformatics*. 2010. V. 11 (1). P. 1–11.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-395>
- Rahimloo T., Ghosha Y. The occurrence of *Alternaria* species on cabbage in Iran. *Phytotoxa*. 2015. V. 102 (3). P. 343–350.  
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.422.2.4>
- Schüffler A., Sterne O., Anke H. Cytotoxic  $\alpha$ -pyrones from *Xylaria hypoxylon*. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.* 2007. V. 62 (3–4). P. 169–172.  
<https://doi.org/10.1515/znc-2007-3-403>

- Scott J.K. *Raphanus raphanistrum* L. – wild radish. In: Julien M., McFadyen R., Cullen J. (eds.). Biological control of weeds in Australia 1960 to 2010. CSIRO Publishing, Collingwood, 2012, pp. 486–492.
- Siciliano I., Ortu G., Gilardi G. et al. Mycotoxin production in liquid culture and on plants infected with *Alternaria* spp. isolated from rocket and cabbage. *Toxins*. 2015. V. 7 (3). P. 743–754.  
https://doi.org/10.3390/toxins7030743
- Siciliano I., Gilardi G., Ortu G. et al. Identification and characterization of *Alternaria* species causing leaf spot on cabbage, cauliflower, wild and cultivated rocket by using molecular and morphological features and mycotoxin production. *Eur. J. Plant Pathol.* 2017. V. 149 (2). P. 401–413.  
https://doi.org/10.1007/s10658-017-1190-0
- Sokornova S.V., Gasich E.L., Bemova V.D. et al. Characterization and identification of naturally transgenic species *Linaria vulgaris* pathogenic mycomycetes. *Ekologicheskaya genetika*. 2018. V. 16 (1). P. 27–34.  
https://doi.org/10.17816/ecogen16127-34
- Suemitsu R., Horiuchi K., Horiuchi M. et al. Detection of Tentoxin by *Alternaria solani*, *A. cucumerina*, *A. bataticola* and *A. japonica*. *Biosci. Biotech. Bioch.* 1992. V. 56 (1). P. 139–139.  
https://doi.org/10.1271/bbb.56.139
- Tringali C., Parisi A., Piattelli M. et al. Phomenins A and B, bioactive polypropionate pyrones from culture fluids of *Phoma tracheiphila*. *Nat. Prod. Lett.* 1993. V. 3 (2). P. 101–106.  
https://doi.org/10.1080/10575639308043845
- Wang J.T., Ma Z.H., Wang G.K. et al. Four meroterpenoids from *Alternaria alternata* isolated from *Paeonia lactiflora*. *Phytochem. Lett.* 2019. V. 31. P. 1–4.  
https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.03.001
- Woudenberg J.H.C., Groenewald J.Z., Binder M. et al. *Alternaria* redefined. *Stud. Mycol.* 2013. V. 75. P. 171–212.  
https://doi.org/10.3114/sim0015
- Андреев В.А., Андреева Е.Ю., Эрднеев Л.П. и др. (Andreev et al.) Использование тест-объекта *Paramecium caudatum* для определения острой токсичности физиологически активных веществ // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2019. Т. 66. № 2. С. 110–113.
- Берестецкий А.О., Ганнибал Ф.Б., Минкович Е.В. и др. (Berestetskiy et al.) Спектр биологической активности грибов рода *Alternaria*, выявленных в филлосфере травянистых растений // Микробиология. 2018. Т. 87. № 6. С. 706–717.
- Берестецкий А.О., Далинова А.А., Дубовик В.Р. и др. (Berestetskiy et al.) Анализ и выделение вторичных метаболитов гриба *Bipolaris sorokiniana* различными методами хроматографии и спектр их биологической активности // Прикладная биохимия и микробиология. 2020. Т. 56. № 5. С. 483–496.
- Берестецкий А.О., Инюшева В.В., Петрова М.О. и др. (Berestetskiy et al.) Инсектицидная, акарицидная и цитотоксическая активность экстрактов некоторых грибов филлосферы и почвенных гипокрепных микромицетов // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 1. С. 17–25.
- Ганнибал Ф.Б. (Gannibal) Виды рода *Alternaria*, обнаруженные в России и на некоторых соседних территориях // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49. № 6. С. 374–385.
- Ганнибал Ф.Б. (Gannibal) Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие. СПб.: ВИЗР, 2011. 71 с.
- Далинова А.А., Салимова Д.Р., Берестецкий А.О. (Dalipova et al.) Грибы рода *Alternaria* как продуценты биологически активных соединений и биогербицидов (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2020. Т. 56. № 3. С. 1–19.
- Сокорнова С.В., Гасич Е.Л., Бемова В.Д. и др. (Sokornova et al.) Поиск и видовая идентификация патогенов природно-трансгенного вида *Linaria vulgaris* // Экологическая генетика. 2018. Т. 16. № 1. С. 27–34.

## Identification and Toxigenic Properties of *Alternaria japonica* Strains

D. R. Salimova<sup>a, #</sup>, D. S. Kochura<sup>b, ##</sup>, S. V. Sokornova<sup>a, ###</sup>, A. S. Orina<sup>a, ####</sup>,  
Ph. B. Gannibal<sup>a, #####</sup>, and A. O. Berestetskiy<sup>a, #####</sup>

<sup>a</sup> All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

<sup>b</sup> Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, St. Petersburg, Russia

<sup>#</sup>e-mail: salimova.92@bk.ru

<sup>##</sup>e-mail: zcaryg@gmail.com

<sup>###</sup>e-mail: svokornova@vizr.spb.ru

<sup>####</sup>e-mail: orina-alex@yandex.ru

<sup>#####</sup>e-mail: fgannibal@vizr.spb.ru

<sup>#####</sup>e-mail: aberestetskiy@vizr.spb.ru

Fungi of the genus *Alternaria* are producers of biologically active compounds, including *A. japonica*, which is the pathogen of radish and some other cruciferous species. This species was not studied enough, and the available literature data on the toxic metabolites produced by *A. japonica* are contradictory. The problem may be related to the use of a narrow set of nutrient substrates for the cultivation of the fungi, or to inaccurate species identification of the strains used. The purpose of this paper is to accurately identify Russian strains of *A. japonica* and to determine the toxigenic potential of the metabolites of this fungus. Four strains of *A. japonica* were identified

based on the polyphasic approach based on a complex of morphological features (diameter and morphology of weekly colonies on diagnostic agar media PCA and YES, conidia size, presence of chlamydospores), analysis of nucleotide sequences of DNA markers (ITS and  $EE1\alpha$ ) and chemotaxonomic data (mycotoxin production). The yield of biomass and extractive matter from cultures of *A. japonica* significantly depended on the composition of the liquid nutrient medium. Analysis of the metabolic profiles of extracts using HPLC/MS-UV showed weak differences between *A. japonica* strains. Extracts from cultures of these fungi showed phytotoxic activity against radish leaves and cytotoxicity against infusoria (*Paramecium caudatum*) cells at the level of action of extracts from *Alternaria tenuissima* cultures. In extracts of *A. japonica*, some compounds known in some *Alternaria* spp. (brassicicolin A, dihydrobrassicicolin A, phomenin A and phomenin B) were identified. Identified in *A. tenuissima* cultures, mycotoxins (alternariol, its methyl ether, tentoxin, tenuazonic acid, altenuene) were not detected in cultures of *A. japonica* strains. Analysis of the toxicity of extracts and the yield of extractive matter in cultures of *A. japonica* has shown that the MFP244011 strain can be used to produce both known and presumably new toxins when cultured on synthetic M1D medium and semi-synthetic liquid nutrient media (for example, Saburo medium).

*Keywords:* *Alternaria japonica*, extracts, identification, metabolic profiles, productivity, toxigenicity

УДК 581.52 : 582.284

## MYCOLOGICAL HERITAGE OF JOHANN BUXBAUM. 2. FUNGI DESCRIBED IN THE SECOND “CENTURIA” ISSUE (1728)

© 2021 г. I. V. Zmitrovich<sup>a,\*</sup> and A. K. Sytin<sup>a,\*\*</sup>

<sup>a</sup> Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, 197376 St. Petersburg, Russia

\*e-mail: iv\_zmitrovich@mail.ru

\*\*e-mail: astragalus@mail.ru

Received November 11, 2020; revised December 12, 2020; accepted December 21, 2020

The present notice continues our acquaintance with the mycological heritage of Johann Christian Buxbaum (1693–1730). A total of 5 “Centuria” (sets of 100 species) under the title “Plantarum minus cognitarum centuria circa Byzantium et in Oriente observatos” were published by the St. Petersburg Academy of Sciences. In the second “Centuria” issue we can find descriptions and illustrations of 8 fungal species: 1) *Agaricus varii coloris, erinaceus*, 2) *Agaricus Pectunculi forma, oblongus luteus*, 3) *Lycoperdon stellatum, calyce inverso*, 4) *Fungus pileo plicatili, maior*, 5) *Fungus parvus pileolo plicatili, cinereus, oris crenatis*, 6) *Fungus plicatilis omnium minimus, albicans*, 7) *Fungus parvus, infundibulum referens*, and 8) *Fungus exiguus albicans capitulo, striato*. The analysis of descriptions and original drawings made it possible to correlate these descriptions with 8 modern agaricomycete taxa: *Hydnellum ferrugineum*, *Tapinella panuoides*, *Geastrum fimbriatum*, *Coprinopsis lagopus*, *Parasola* sp., *Coprinopsis cordispora* species complex, *Arrhenia obscurata*, and *Coprinellus disseminatus*. The nomenclature of these taxa is presented and their homogeneity is preliminarily estimated in the light of current data.

**Keywords:** Agaricomycetes, botanists of the 18th century, *Coprinopsis*, *Coprinellus*, drawings of fungi, *Geastrum*, *Hydnellum*, morphology, nomenclature, *Parasola*, *Tapinella*

**DOI:** 10.31857/S0026364821030119

The present notice continues our acquaintance with the mycological heritage of Johann Christian Buxbaum (1693–1730), a naturalist who was appreciated by Peter the Great, the first botanist-academician of the Saint Petersburg Academy of Sciences (Zmitrovich, Sytin, 2021). A total of 5 “Centuria” (sets of 100 species) under the title “Plantarum minus cognitarum centuria circa Byzantium et in Oriente observatos” were published by the St. Petersburg Academy of Sciences. Basically, they describe and well illustrate the vascular plants associated with various habitats of North Africa, the Eastern Mediterranean, and South Russia. But among these several species of mosses, lichens, algae, and fungi were scattered, whereas their drawings were made with amazing for their time and sometimes almost photographic accuracy.

In the second “Centuria” issue (Buxbaum, 1728) we can find descriptions and illustrations of 8 species of fungi in pre-Linnean polynomial nomenclature. The peculiarity of descriptions consists of their brevity and capacity. Rather powerful information load falls on the drawings, made quite accurately. In some cases, important ecological notes are given to help identify the fungal species. The analysis of species descriptions follows here.

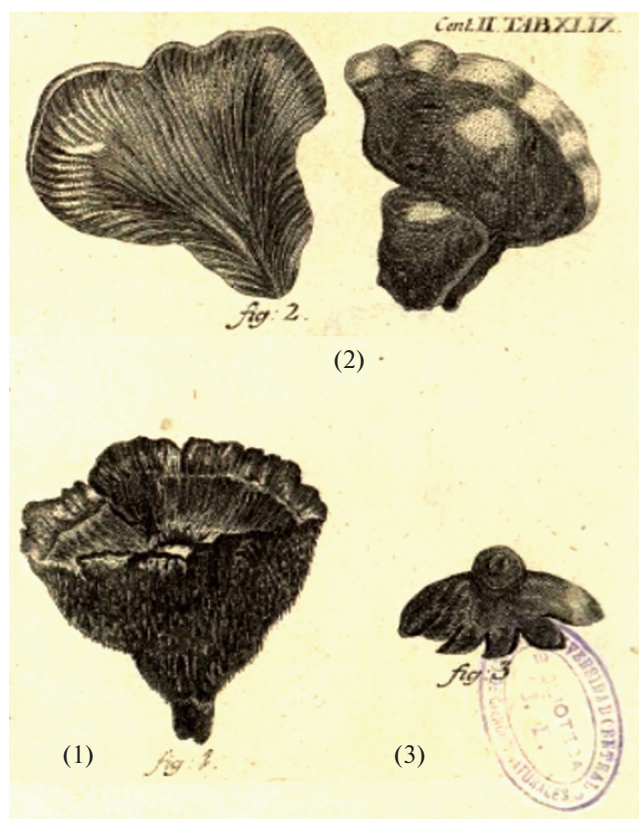
1. *Agaricus varii coloris, erinaceus* – p. 43, tab. XLIX, f. 1.<sup>1</sup> [Fig. 1 (1)]<sup>2</sup>.

“Qui hic delineatur est pediculo donatus, quando enim in ligno terra operto nascitur, pediculum acquirit et Fungum mentitur, quod etiam in aliis observamus Agaricis. Si vero truncis resectis terre proximis adnascitur, semicircularis est, crassus satis et succulentus, circa exortum lanugine alba mucida obsitus, spithamam interdum longus et palmam latus, superne variegatus, hirsutus et circa oras villosus. Prona pars aculeis fuscis aut variegatis lineas duas vel tres longis aspera est instar *Fungi pene candidi, prona parte erinacei I.B.*<sup>3</sup> Hic *Fungus erinaceus* immerito a Botanicis in tres discepiuntur species. Iunior enim albicat aut lutescit tener est et esculentus, antiquus vero rigidus evadit et coriaceus coloremque mutat, nec in putrilaginem more Fungorum abit, sed usque in hyemem superstes remanet et talem describit Bauhinus, a quo aetate solum differunt *Fungus erinaceus albus esculentus, in sylvis Tisculanis* Bocc. et *Fungus erinaceus* Fl. Ien.”.

<sup>1</sup> The protologues refer to page, table, and figure (f) number of the original description (Buxbaum, 1728).

<sup>2</sup> The references to the figures into the present paper are given in rectangular brackets.

<sup>3</sup> Italicized by Buxbaum.



**Fig. 1.** Engravings from drawings to Buxbaum's "Centuria" II (Buxbaum, 1728) published within a book tables: (1) – *Agaricus varii coloris, erinaceus* (*Hydnellum ferrugineum* in modern taxonomy); (2) – *Agaricus Pectunculi forma, oblongus luteus* (*Tapinella panuoides* in modern taxonomy); (3) – *Lycoperdon stellatum, calyce inverso* (*Gastrum fimbriatum* in modern taxonomy).

**Current status.** The drawing of a mature basidiome, coupled with an indication of thickened context and age-related consistency changes in the diagnosis, indicates that the described species unambiguously belongs to the genus *Hydnellum* P. Karst. From the present figure and protologue of this fungus, it is rather difficult to accurately indicate its species affiliation. Since the color of the young basidiomata was indicated as yellow (not orange), such versions as *Hydnellum ferrugineum* (Fr.) P. Karst., *H. mirabile* (Fr.) P. Karst., and *H. geogenium* (Fr.) Banker are the basic ones in this case. However, the habitus of mature specimens of *H. mirabile* is "stronger" than that is shown in Buxbaum's figure (the cap with thinning out edges and funnel-shaped tendency). The hymenophoral spines in the species described by Buxbaum are indicated as brown in a mature state, whereas in *H. geogenium* the yellow tint of the hymenophore persists for a long time. Hence, it is most likely that Buxbaum was dealing with the most common genus representative, *H. ferrugineum* (*Agaricomycetes, Thelephorales, Bankeraceae*).

**Post-Linnean synonymy:** *Hydnellum ferrugineum* (Fr.) P. Karst., Meddn Soc. Fauna Flora fenn. 5: 41,

1879. ≡ *Hydnium ferrugineum* Fr., *Observ. mycol.* 1: 133, 1815 (sanct. in *Syst. Mycol.*, 1821). = *H. hybridum* Bull., *Hist. Champ. Fr.* 1(2): 307, 1791. = *Hydnellum sanguinarium* Banker, *Mem. Torrey bot. Club* 12(2): 152, 1906. = *H. pineticola* K.A. Harrison, *Can. J. Bot.* 42: 1226, 1964.

**Modern monograph:** Stalpers (1993).

**Note.** According to Larsson et al. (2019), this is a good species rather than a species complex.

2. *Agaricus Pectunculi forma, oblongus luteus* – p. 44, tab. XLIX, f. 2 [Fig. 1 (2)].

"Elegans hic *Agaricus* superne hirsutus coloris lutei, nigris maculis adpersi, inferne totus luteus, lamellis crebris partim usque ad angustiore partem, ubi ligno adhaeret, excurrentibus, partim in medio evanestibus, instructus, mollis et carnosus. In pontibus ligneis auctumno. *Agarici* species novae fine necessitate sictae sunt sequentes. *Fungus pedem equinum referens, subtus foraminosus* D. Rai III. *Agaricus igniarius, tuberis forma, ingens* Ind. H.L.B. *Fungus parvus pullus, stipitibus cariosis adnascens, superne lamellatus* D. Vernon P. Mant. est monstrosa degeneratio *Agarici* lamellati qualis pariter est *Agaricus nigricans totus ligno adhaerens, lamellis sinuosis et invicem implexis tantum protuberantibus* Cat. Hall. Monstris etiam adnumerandus *Agaricus ex alneo trunco, cortice duronitido castanei coloris obductus, alias lignosus, caput quasi caninum repraesentans* Helw. *Suppl. Fl. Praef.* Quem lignosum describit, ad Auriculam Iudae tamen referendum dicit. Quam bene illue referatur, norunt illi, quibus cognita est Auricula Iudae, cuius substantia cartilaginea et membranacea, quemadmodum auris, uti Clusius describit. *Agaricus quernus lamellatus coriaceus, villosus* Dill. *Cat.* Est varietas pruis in decto Catalogo memorati, et tres *Agarici porosi igniarii* eiusdem varietates sunt *Agarici pedis equini facie* Tourn. Qui multis modis variat. Quomodo *Agaricus villosus et porosus candidus, faginus* Dill. *Cat.* a saligno differat video. De *Agarico Lichenis* forma variegato et varii coloris squamoso Tourn alii iam dixerunt. Ad *Agaricum* potius quam *Fungum* videtur pertinere *Fungus aureus cruste instarcortici quercino raso innascens* Ind. H.L.B. Male *Agaricis* adnumeratur a Tournefortio *Fungus autumnalis, bisulcus velut Apex Flaminis Plinii* Menz. *Pug.* quippe qui genuinus *Boletus*".

**Current status.** Despite the fact that Buxbaum does not indicate on what wood substrate this fungus was collected, being limited only by the note "In pontibus ligneis auctumno", his drawing together with the description allows unequivocally to associate this material with *Tapinella panuoides* (*Agaricomycetes, Boletales, Tapinellaceae*). This conclusion is in agreement with anisotropic growth of the marginal zone of the basidiome visible from the drawing, the feature which is not characteristic to other pleurotooid fungi besides the *Pleurocybella* Singer, as well as the darkening of yellow hymenophore when injured due to pigments oxidation [in the *Crepidotus* (Fr.) Staude species, yellow or orange gills do not turn black when injured]. It should be



noted that this species can be associated both with conifers (the most characteristic case) and hardwoods.

**Post-Linnean synonymy:** *Tapinella panuoides* (Fr.) E.-J. Gilbert, Les Livres du Mycologue Tome I–IV, Tom. III: Les Bolets: 68, 1931. ≡ *Agaricus panuoides* Fr., Observ. mycol. 2: 227, 1818 (sanct. In Syst. Mycol., 1821). = *Agaricus acheruntius* Humb., Fl. Friberg. Spec.: 73, 1793. = *Paxillus fagi* Berk. et Broome, Ann. Mag. nat. Hist., Ser. 5 9: 181, 1882.

**Modern monograph:** Henderson et al. (2005).

3. *Lycoperdon stellatum*, *calyce inverso* – p. 45, tab. XLIX, f. 3 [Fig. 1 (3)].

“Differt a *Lycoperdo vesicario stellato* Tourn. Inst. quod globatum pulverulentum non complectatur, sed versus terram orae flectuntus, quae non tam profunde incisae sed leviter tantum crenatae sunt. Globulus multis dehiscit crenis foramen exiguum formantibus. Creseit in gramineis circa Constantinopolim auctumno”.

**Current status.** In Buxbaum’s figure, we can see a gasteromycete with a three-layer peridium and the exoperidium breaking into bending lobes with the formation of so-called earthstar life form, and the endoperidium opens with a singular stoma. Starting with Persoon (1794), the fungi having this peculiar habit have been considered into the genus *Geastrum* Pers. Some later, Morgan (1889) established a separate genus *Astraeus* Morgan for species devoid of columella and internal hymenia. Erwin (1951) emphasized a microanatomical difference between these two genera, including such characteristics as the shape of sclerothyphae and basidiospores. Buxbaum, of course, does not provide any information on the anatomical features of earthstar described, therefore, the generic affiliation of this taxon we can carry out only from some indirect data. Particularly, we can associate the habitat of this fungus with arid treeless areas near Constantinople. This fact is in favor of *Geastrum* generic affiliation, since *Astraeus* representatives are forest mycorrhizal fungi, whereas *Geastrum* species, being the humus saprotrophs, can be associated with tree-less spaces. In the figure, we counted 6 exoperidium lobes, although it is not clear whether this is a didactic step aimed at showing all the lobes that are present, or the lobes that we do not see are also assumed in the background. Still, more evidence suggests that the species should be associated with the *Geastrum* genus. In the diagnosis, there is a hint on hygroscopic bending of the lobes. It is interesting that Linnaeus, describing his already binomial *Lycoperdon stellatum* (“Volva multifida patente, capitulo glabro, ore acuminato dentato”) (Linnaeus, 1753, p. 1184) refers to Buxbaum’s description into consideration<sup>4</sup>. A superficial examination of the holotype from the Linnaean Herbarium (The Linnean Collection, 2020) allows us to correlate this taxon with *G. fimbriatum* Fr. (*Agaricomycetes*, *Agaricales*, *Geastraceae*), and

all the materials presented by Buxbaum don’t contradict this conclusion. For the nomenclature Linnean name is insignificant, because the gasteromycetes will have priority the names sanctioned by the Persoon (1801). In application to the species in question, the name *G. fimbriatum* persists in current use, although it is likely that *G. rufescens* var. *minor* Pers. belongs here.

**Post-Linnean synonymy:** *Geastrum fimbriatum* Fr., Syst. mycol. 3(1): 16, 1829. = *Lycoperdon stellatum* L., Sp. pl. 2: 1184, 1753 [non *L. stellatus* Scop., Fl. carniol. 2: 489, 1772. = *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan, J. Cincinnati Soc. Nat. Hist. 12: 20, 1889]. = *L. stellatum* Oeder, Fl. Danic.: tab. 360, 1767 nom. illeg. (Art 53.1). = *Geastrum rufescens* var. *minor* Pers., Syn. meth. fung. 1: 134, 1801. = *Lycoperdon sessile* Sowerby, Col. fig. Engl. Fung. Mushr., Suppl.: tab. 401, 1809. = *Geastrum tunicatum* Vittad. [ut *Geaster tunicatus*], Monogr. Lycoperd.: 162, 1842. = *G. novohollandicum* F. Muell. in Berkeley [ut *Geaster novo-hollandicus*] J. Linn. Soc., Bot. 13: 170, 1873. = *G. sessile* Pouzar, Folia geobot. phytotax. 6: 95, 1971.

**Modern monograph:** Sunhede (1989).

**Note.** As a rule, the gasteromycete species in their volume correspond to the linneons, i.e. there are few described cryptic species among them. In the case of Buxbaum’s species under consideration, the problem is a rather limited dataset presented in the description.

4. *Fungus pileo plicatili, maior* – p. 45, tab. L, f. 1 [Fig. 2 (1)].

“Tuteus est fusco permixtus, lamellis subtus fuliginosis, totus tener. In gramineis hortorum et circa sepes auctumno”.

**Current status.** Rather compact Buxbaum’s original description is somewhat compensated by the highly informative drawing. In print engraving, it looks less informative than in the original, stored in the Archive of St. Petersburg Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. Particularly characteristic is veil remains, splitting to form fibers. This feature coupled with a slightly curled and bursting margin, general habit, and described color variability and habitat, fairly definitely points to *Coprinopsis lagopus* (Fr.) Redhead, Vilgalys et Moncalvo (*Agaricomycetes*, *Agaricales*, *Psathyrellaceae*).

**Post-Linnean synonymy:** *Coprinopsis lagopus* (Fr.) Redhead, Vilgalys et Moncalvo in Redhead, Vilgalys, Moncalvo, Johnson et Hopple, Taxon 50(1): 229, 2001. ≡ *Agaricus lagopus* Fr., Syst. mycol. 1: 312, 1821. = *Coprinus lagopus* f. *macrospermus* Romagn., Revue Mycol. 10(5–6): 89, 1945. = *C. lagopus* var. *vacillans* Uljé in Uljé, Doveri et Noordeloos, Persoonia 17(3): 468, 2000.

**Modern monograph:** Keirle et al. (2004).

**Note.** Phylogenetically, *Coprinopsis lagopus* is rather a species complex (Nagy et al., 2013), and at least such taxa as *C. jonesii* (Peck) Redhead, Vilgalys et Moncalvo, and *C. pachyderma* (Bogart) Redhead, Vilgalys et

<sup>4</sup> In current version of the Index Fungorum (2020), the Linnean name *Lycoperdon stellatum* is erroneously associated with unidentified myxomycete.



**Fig. 2.** Engravings from drawings to Buxbaum's "Centuria" II (Buxbaum, 1728) published within a book tables: (1) – *Fungus pileo plicatili, maior* (*Coprinopsis lagopus* in modern taxonomy); (2) – *Fungus parvus pileolo plicatili, cinereus, oris crenatis* (*Parasola* sp. in modern taxonomy); (3) – *Fungus plicatilis omnium minimus, albicans* (*Coprinopsis cordispora* species complex in modern taxonomy); (4) – *Fungus parvus, infundibulum referens* (*Arrhenia obscurata* in modern taxonomy); (5) – *Fungus exiguus albicans capitulo, striato* (*Coprinellus disseminatus* in modern taxonomy).

Moncalvo are intermixed as separate lineages within a huge *C. lagopus*-conglomerate.

5. *Fungus parvus pileolo plicatili, cinereus, oris crenatis* – p. 46, tab. L, f. 2 [Fig. 2 (2)].

"Tenerrimus est totus cinere quasi respersus. In pascuis circa Bosphorum Novembri".

**Current status.** This highly short Buxbaum's description coupled with a more informative drawing shows that, like the previous species, this is one of minute ink-cap fungi representatives. Very thin flesh of the pileus coupled with pronounced ridges formed with few gills refer to the genus *Parasola* Redhead, Vilgalys et Hopple, within this we can choose between plane-cap species, like *Parasola lactea* (A.H. Sm.) Redhead,

Vilgalys et Hopple, or *P. misera* (P. Karst.) Redhead, Vilgalys et Hopple (*Agaricomycetes, Agaricales, Psathyrellaceae*). The first species varies widely in basidiome sizes, so few of its specimens could well be characterized as "fungus parvus". However, without information on any micro-anatomical details, a further affiliation of the species is problematic.

**Post-Linnean synonymy:** *Parasola* Redhead, Vilgalys et Hopple, *Taxon* 50(1): 235, 2001.

**Modern monograph:** Keirle et al. (2004).

**Note.** Phylogenetically, *P. lactea* and *P. misera* represent the two closely related species (Szarkándi et al., 2017).

6. *Fungus plicatilis omnium minimus, albicans* – p. 46, tab. L, f. 3 [Fig. 2 (3)].

"Occurrit cum precedente".

**Current status.** The species continues the gallery of minute ink-cap fungi described by Buxbaum in the 2nd "Centuria" issue. This minute fungus combines a less pronounced, but still present plicate tendency on the pileus margin, and a farinaceous veil remnant, similar to that of *Coprinopsis lagopus* on the central part of the pileus. Taking into consideration all aforementioned, as well as small sizes of basidiome, we can attribute this taxon to the *C. cordispora* species complex in Keirle's et al. (2004) sense, i.e. with the inclusion of *C. stercorea* (Fr.) Redhead, Vilgalys et Moncalvo (*Agaricomycetes, Agaricales, Psathyrellaceae*).

**Post-Linnean synonymy:** *Coprinopsis stercorea* (Fr.) Redhead, Vilgalys et Moncalvo in Redhead, Vilgalys, Moncalvo, Johnson et Hopple, *Taxon* 50(1): 231, 2001. ≡ *Coprinus stercoreus* Fr., *Epicr. syst. mycol.*: 251, 1838. = *Agaricus stercorarius* Bull., *Herb. Fr.* 6: tab. 542, 1786. = *Coprinus stercorarius* Sacc., *Syll. fung.* 5: 1103, 1887. = *Fungus stercorarius* Kuntze, *Revis. gen. pl.* 3(3): 480, 1898.

**Modern monograph:** Keirle et al. (2004).

**Note.** As it was mentioned above, here we are dealing with a species complex. Buxbaum's epithet "plicatilis", however, in case of further splitting of the *C. cordispora* species-complex it would be of little use since in post-Linnean taxonomy this epithet is preoccupied with *Agaricus plicatilis* Curtis ≡ *Parasola plicatilis* (Curtis) Redhead, Vilgalys et Hopple.

7. *Fungus parvus, infundibulum referens* – p. 46, tab. L, f. 4 [Fig. 2 (4)].

"Fuscus est et subhirsutus, lamellis magis ad album vergentibus colorem. In pascuis passim".

**Current status.** This species stands out from a range of minute ink-cap fungi described in 2nd Buxbaum's "Centuria" issue by its omphaloid basidiomata with white gills edge. Such minute basidiomes of omphaloid morphotype are characteristic to such genera as *Rickenella* Raithelth. (*Agaricomycetes, Hymenochaetales, Rickenellaceae*), *Omphalina* Quéél., *Gerronema* Singer (*Agaricomycetes, Agaricales, incertae sedis*), and some *Arrhenia* Fr. representatives (*Agaricomycetes, Agari-*



*cales*, *Hygrophoraceae*). Such important characteristics as “fuscus est et subhirsutus” refers to the last of the aforementioned genus. The term “subhirsutus” is applicable to the young stages of pileipellis development, characterized in modern terminology as “initially coarsely granular, becoming minutely pruinose, and finally merely of a pebbly or finely bumpy texture” (Voitk et al., 2014). Most of *Arrhenia* species are distributed mostly within various tundra and alpine habitats, however, the temperate species *Arrhenia obscurata* (D.A. Reid) Redhead, Lutzoni, Moncalvo et Vilgalys, being algophilous (Voitk et al., 2014), can grow in a wide range of pioneer communities. Buxbaum does not provide any substratum for the record in question.

**Post-Linnean synonymy:** *Arrhenia obscurata* (D.A. Reid) Redhead, Lutzoni, Moncalvo et Vilgalys, Mycotaxon 83: 47, 2002. ≡ *Omphalina obscurata* D.A. Reid, Trans. Br. mycol. Soc. 41(4): 419, 1958. = *Omphalia obscurata* Kühner, Anns Univ. Lyon, Ser. 3, Sci., Sect. C 6: 130, 1949; *O. obscurata* Kühner ex M. Lange, Meddr Grønland, Biosc. 147 (11): 21, 1955. = *Clitocybe atrobrunnea* H.E. Bigelow, Beih. Nova Hedwigia 81: 401, 1985.

**Modern monograph:** Bigelow (1985).

**Note.** Phylogenetically, this species seems to be a more or less homogeneous unit (Voitk et al., 2020).

8. *Fungus exiguus albicans capitulo, striato* – p. 46, tab. L, f. 5 [Fig. 2 (5)].

“Gregarim nascitur in lignis putridis. Capitulum fere globosum est, oris semper versus pediculum inflexis, eleganter striatum, subtus lamellis crebris instructum. In hortis ad maceris”.

**Current status.** The Buxbaum’s gallery of minute ink-cap fungi is crowned with a very characteristic species, persisting in current use as *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange (*Agaricomycetes*, *Agaricales*, *Psathyrellaceae*). This attribution easily confirmed by original description data (small size of basidiomata, pileus shape, thin stem, substrate, gregarious development) as well as by rather an accurate drawing of the fungus.

**Post-Linnean synonymy:** *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E. Lange [ut *disseminata*], Dansk bot. Ark. 9(no. 6): 93, 1938. ≡ *Agaricus disseminatus* Pers., Syn. meth. fung. 2: 403, 1801. = *Agaricus minutulus* Schaeff., Fung. bavar. palat. nasc. 4: 72, 1774. = *Agaricus digitaliformis* Bull., Herb. Fr. (Paris) 1: tab. 22, 1781. = *Agaricus striatus* Bull., Herb. Fr. 12: tab. 552, 1792. = *Coprinus floridanus* Murrill, Proc. Fla Acad. Sci. 7(2/3): 125, 1945.

**Modern monograph:** Keirle et al. (2004).

**Note.** Phylogenetically, this species seems to be a more or less homogeneous unit (Nagy et al., 2012).

The subsequent notes will be focused on the mycological material of the III–V “Centuria” issues.

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

## REFERENCES

- Bigelow H.E. North American species of *Clitocybe*. Part II. Beih. Nova Hedw. 1985. V. 81. P. 281–471.
- Buxbaum J.C. Plantarum minus cognitarum. Centuria II. Plantas circa Byzantium et in Oriente observatos. Typographia Academiae, Petropolis, 1728.
- Ervin M.D. *Astraeus* and *Geastrum*. Proc. Iowa Acad. Sci. 1951. V. 58. P. 97–99.
- Henderson D.M., Orton P.D., Watling R. (eds). British Fungus Flora. Agarics and boleti. V. 1. Royal Botanic Garden, Edinburgh, 2005.
- Index Fungorum. [A nomenclature database]. 2020. <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>. Accessed 21.08.2020.
- Keirle M.R., Hemmes D.E., Desjardin D.E. Agaricales of the Hawaiian Islands. 8. *Agaricaceae: Coprinus* and *Podaxis*; *Psathyrellaceae: Coprinopsis*, *Coprinellus* and *Parasola*. Fungal Diversity. 2004. V. 15. P. 33–124.
- Larsson K.-H., Svantesson S., Miscevic D. et al. Reassessment of the generic limits for *Hydnellum* and *Sarcodon* (*Thelephorales*, *Basidiomycota*). MycoKeys. 2019. V. 54. P. 31–47. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.54.35386>
- Linnaeus C. Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. T. 2. L. Salm, Holm, 1753.
- Morgan A.P. North American fungi, the gasteromycetes. J. Cinc. Soc. Nat. His. 1889. V. 12. P. 8–22.
- Nagy L.G., Hazi J., Vagvolgyi C. et al. Phylogeny and species delimitation in the genus *Coprinellus* with special emphasis on the haired species. Mycologia. 2012. V. 104 (1). P. 254–275. <https://doi.org/10.3852/11-149>
- Nagy L.G., Desjardin D.E., Vágvolgyi C. et al. Phylogenetic analyses of *Coprinopsis* sections *Lanatulii* and *Atramentarii* identify multiple species within morphologically defined taxa. Mycologia. 2013. V. 105 (1). P. 112–124. <https://doi.org/10.3852/12-136>
- Persoon C.H. Dispositio methodica fungorum [A methodical classification of the fungi]. Neues Magazin für die Botanik. 1794. V. 1. P. 81–128.
- Persoon C.H. Synopsis methodica fungorum. Gotting, 1801.
- Stalpers J.A. The aphyllphoraceous fungi I. Keys to the species of the *Thelephorales*. Stud. Mycol. 1993. № 35. P. 1–168.
- Sunhede S. *Geastraceae (Basidiomycotina)*: Morphology, ecology, and systematics with special emphasis on the North European species. Synopsis Fungorum, Oslo, 1989.
- Szarkándi J.G., Schmidt-Stohn G., Dima B. et al. The genus *Parasola*: phylogeny and the description of three new species. Mycologia. 2017. V. 109 (4). P. 620–629. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1386526>
- The Linnean Collections. Linnean Society. *Lycoperdon stellatum* [Holotype scan]. 2020. <http://linnean-online.org/13883/>. Accessed 21.08.2020.
- Voitk A., Voitk M., Mann H. et al. *Arrhenia obscurata* – the Phoenix of Mt. Ignoble. *Omphalina*. 2014. V. 5 (7). P. 5–21.

Voitk A., Lücking R., Moreau P.-A. et al. Surprising morphological, ecological and ITS sequence diversity in the *Arrhenia acerosa* complex (Basidiomycota: Agaricales: Hygrophoraceae). *Sydowia*. 2020. V. 73. P. 133–162. <https://doi.org/10.12905/0380.sydowia73-2020-0133>

Zmitrovich I.V., Sytin A.K. Mycological heritage of Johann Buxbaum. 1. Fungi described in the first “Centuria” issue (1728) // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2021. V. 55. N 1. P. 67–70. <https://doi.org/10.31857/S0026364821010128>

## Микологическое наследие Иоганна Буксбаума. 2. Грибы, описанные во второй “Центурии” (1728)

И. В. Змитрович<sup>1, #</sup>, А. К. Сытин<sup>1, ##</sup>

<sup>1</sup> Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>#</sup>e-mail: [iv\\_zmitrovich@mail.ru](mailto:iv_zmitrovich@mail.ru)

<sup>##</sup>e-mail: [astragalus@mail.ru](mailto:astragalus@mail.ru)

Настоящая заметка продолжает серию статей, посвященных анализу микологического материала, опубликованного крупным отечественным ботаником первой трети XVIII столетия, Иоганном Христианом Буксбаумом (1693–1730) в его “Центуриях” (сотницах). Во второй центурии (1728) можно найти описания и иллюстрации восьми видов грибов: 1) *Agaricus varii coloris, erinaceus*, 2) *Agaricus Pectunculi forma, oblongus luteus*, 3) *Lycoperdon stellatum, calyce inverso*, 4) *Fungus pileo plicatili, maior*, 5) *Fungus parvus pileolo plicatili, cinereus, oris crenatis*, 6) *Fungus plicatilis omnium minimus, albicans*, 7) *Fungus parvus, infundibulum referens*, 8) *Fungus exiguus albicans capitulo, striato*. Проведенный анализ описаний и оригинальных рисунков позволил соотнести эти описания с восемью видами агарикомицетов: *Hydnellum ferrugineum*, *Tapinella panuoides*, *Geastrum fimbriatum*, *Coprinopsis lagopus*, *Parasola* sp., *Coprinopsis cordispora*-комплекс, *Arrhenia obscurata* и *Coprinellus disseminatus*. Представлена номенклатура этих таксонов и предварительно оценена их гомогенность в свете современных данных.

**Ключевые слова:** агарикомицеты, ботаники XVIII столетия, морфология, номенклатура, рисунки грибов, *Coprinopsis*, *Coprinellus*, *Geastrum*, *Hydnellum*, *Parasola*, *Tapinella*

УДК 582.282.123.4 : 577.152.34

## ТРОМБОЛИТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ МИКРОМИЦЕТА *ASPERGILLUS TERREUS* 2

© 2021 г. А. А. Осмоловский<sup>1,2,\*</sup>, Е. С. Звонарева<sup>2,\*\*</sup>, В. Г. Крейер<sup>1,\*\*\*</sup>, Н. А. Баранова<sup>1,\*\*\*\*</sup>,  
И. Б. Котова<sup>1,\*\*\*\*\*</sup>, Н. С. Егоров<sup>3,\*\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119234 Москва, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский университет “Высшая школа экономики”, 109028 Москва, Россия

<sup>3</sup> Международный биотехнологический центр МГУ, 119234 Москва, Россия

\*e-mail: aosmol@mail.ru

\*\*e-mail: zvonareva.es@gmail.com

\*\*\*e-mail: vkreyer@yandex.ru

\*\*\*\*e-mail: vkreyer@yandex.ru

\*\*\*\*\*e-mail: kira1959@mail.ru

\*\*\*\*\*e-mail: nsegorov21@mail.ru

Поступила в редакцию 30.11.2020 г.

После доработки 17.12.2020 г.

Принята к публикации 21.12.2020 г.

Показан высокий тромболитический потенциал внеклеточной протеиназы микромицета *Aspergillus terreus* 2: протеиназа способна полностью гидролизовать новообразованные тромбы менее, чем за 120 мин, обладает выраженной фибринолитической и фибриногенолитической активностью. Кроме того, была обнаружена активаторная к плазминогену активность протеиназы, что позволяет рассматривать ее в качестве непрямого фибринолитического агента.

**Ключевые слова:** протеиназы микромицетов, тромболитизис, фибринолитические ферменты, *Aspergillus terreus*

**DOI:** 10.31857/S0026364821030089

Микромицеты рода *Aspergillus* широко изучаются в качестве продуцентов протеолитических ферментов, перспективных для гидролиза различных белков и белоксодержащих субстратов (Serba et al., 2020). Некоторые штаммы изученных в последнее время видов аспергиллов секретируют протеиназы, высокоактивные в отношении фибриллярных белков – коллагена, эластина, фибрина (Pорова et al., 2020; Chimbekujwo et al., 2020; Pорова et al., 2021). Фибринолитические (плазминоподобные) ферменты аспергиллов представляют особый интерес, поскольку могут найти практическое применение в различных областях медицины, демонстрируя высокое сродство к компонентам тромба и способность к его расщеплению (Shilpa et al., 2019; Osmolovskiy et al., 2020). Например, внеклеточные протеиназы *Aspergillus ochraceus* L-1 по сравнению с аналогами – препаратами трипсина и стрептокиназы – проявляли в 2 раза бóльшую фибринолитическую и фибриногенолитическую активность (Osmolovskiy et al., 2020).

Одним из протеолитически активных микромицетов является *A. terreus*, секретирующий протеиназы с различной субстратной специфично-

стью, а их суммарная доля в секретоме достигает 16% (Han et al., 2010; Saritha et al., 2016). Для микромицетов этого вида характерна продукция сериновых протеиназ, как щелочных с оптимумом температуры 37°C (Chakrabarti et al., 2000), так и нейтральных, проявляющих максимальную активность при 50°C (Biaggio et al. 2016; de Lima et al., 2021). Считается, что патогенные штаммы *A. terreus*, ассоциированные с рядом заболеваний, секретируют протеиназы как факторы вирулентности (Ramirez-Garcia et al., 2018).

Штамм *A. terreus* 2 – микромицет-сапротроф, известный как продуцент протеолитических ферментов, обладающих способностью проявлять плазминоподобную и активаторную к прекалликреину активность (Zvonareva et al., 2018). Ранее из культуральной жидкости продуцента была выделена протеиназа и изучен спектр ее активности по отношению к различным белкам коагулянтной и антикоагулянтной систем (Osmolovskiy et al., 2014; Zvonareva et al., 2015). Однако выраженность ее действие по отношению к белкам фибринолитической системы человека и способность к тромболитизису изучены не были.

**Таблица 1.** Протеолитическая активность внеклеточной протеиназы *Aspergillus terreus* 2

Тип активности	Единицы измерения активности (Е)	Общая активность, Е/мл	Удельная активность, Е/мг белка
Фибринолитическая	мкмоль тирозина/мин	75.0 ± 2.5	303.6 ± 10.5
Фибриногенолитическая	мкмоль тирозина/мин	86.0 ± 2.5	347.7 ± 10.5
Фибринолитическая	усл. ед.	420.0 ± 30.0	1690.0 ± 60.0
Активаторная к плазминогену	усл. ед.	254.0 ± 30.0	1028.0 ± 60.0

Целью работы было изучение тромболитического потенциала внеклеточной протеиназы *A. terreus* 2.

В работе использовали штамм из коллекции кафедры микробиологии МГУ имени М.В. Ломоносова. Для получения протеолитических ферментов микромицет выращивали в условиях глубокого культивирования в подобранных ранее условиях (Zvonareva et al., 2018). Получение препарата внеклеточных протеиназ включало высаливание белков из культуральной жидкости сульфатом аммония и диализ (Zvonareva et al., 2015). Разделение препарата проводили методом колоночного электрофокусирования по Вестербергу как описано ранее (Zvonareva et al., 2015). Фракции с pI 4.3–4.8 содержали активную протеиназу. Гомогенность выделенной протеиназы подтверждали электрофоретически по методу Лэммли. Белок определяли по методу Брэдфорд.

Активность протеиназ определяли с помощью 1%-х суспензий фибрина и фибриногена, приготовленных на 0.1 М трис-НСl буфере (pH 8.2) (Sigma-Aldrich, США) по модифицированному методу Ансона–Хагихара (Osmolovskiy et al., 2016). Реакции проводили в течение 10 мин при 37° С при постоянном встряхивании (600 об/мин) в термостатической камере TS-100 (BioSan, Латвия). Измерение оптической плотности растворов (275 нм) проводили на спектрофотометре BioSpectrometer® kinetic (Eppendorf, Германия) после их центрифугирования (12400 об./мин, 10 мин). Активность выражали в мкмольях тирозина, образовавшегося за 1 мин в 1 мл пробы ( $E_{\text{тир}}$ ).

Фибринолитическую и активаторную к плазминогену активность определяли на фибриновых пластинах методом Аструпа–Мюллерца–Лассена (Sharkova et al., 2015). Активность выражали в усл. ед. на 1 мл пробы.

Тромболитическую активность протеиназы измеряли гравиметрически по уменьшению массы тромбов, гидролизованных при 37°С в течение 30–180 мин под действием протеиназы *A. terreus* 2 (Kotb et al., 2015). По окончании реакции рассчитывали процент негидролизованных тромбов.

В табл. 1 представлено действие выделенной протеиназы микромицета *A. terreus* 2 на фибрин, фибриноген и плазминоген. Видно, что протеиназа активно расщепляет указанные субстраты.

Впервые обнаружена активаторная к плазминогену активность протеиназ, образуемых *A. terreus* 2. Из данных литературы известно, что не все представители рода *Aspergillus* образуют протеиназы, способные активировать плазминоген (Kotb et al., 2015). Наличие такой активности в совокупности с фибринолитической активностью позволяет утверждать, что выделенная протеиназа может осуществлять как прямой фибринолиз (непосредственный лизис фибрина), так и непрямо (через активацию плазминогена – белка, превращающегося в кровотоке в основной фибринолитический фермент организма человека – плазмин). Активаторная к плазминогену активность протеиназы *A. terreus* 2 составила около 40% от фибринолитической, что значительно превышает таковую для других микромицетов (Sharkova et al., 2015).

Фибриногенолитическая активность выделенной протеиназы оказалась несколько больше фибринолитической, но несущественно, что подтверждает полученные ранее данные о равноценности гидролиза этих субстратов штаммом *A. terreus* 2 (Zvonareva et al., 2018).

В связи с полученными данными существенный интерес представляет изучение тромболитической активности протеиназы *A. terreus* 2, позволяющей выявить ее эффективность расщеплять многокомпонентный и объемный субстрат протеолиза. Полученные результаты представлены на рис. 1. Исследованная протеиназа очень быстро растворяла новообразованные тромбы: уже через 30 мин инкубации остаточная масса тромба составила 30%, за 90 мин – 10%. Полностью тромб был гидролизован протеиназой *A. terreus* 2 менее чем за 120 мин, что говорит о ее высоком тромболитическом потенциале.

Полученные данные дополняют представления о способах применения внеклеточных протеиназ *A. terreus* и убедительно показывают, что фермент может быть использован не только в легкой промышленности или в составе моющих средств, о чем свидетельствует ряд исследований, но и в биомедицине (Chakrabarti et al., 2000; Biaggio et al. 2016; de Lima et al., 2021).

Таким образом, внеклеточная протеиназа микромицета *A. terreus* 2 обладает высоким тромболитическим потенциалом, а сам микромицет являет-

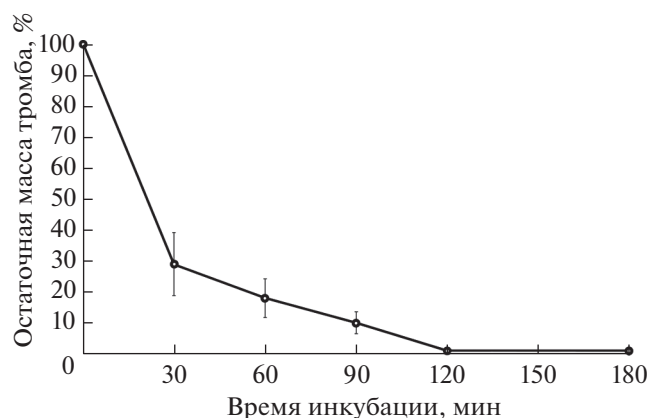


Рис. 1. Тромболизис (остаточная масса, %) протеиназой *Aspergillus terreus* 2.

ся перспективным продуцентом протеиназ фибринолитического и тромболитического действия. Способность выделенной протеиназы проявлять активаторную к плазминогену активность позволяет рассматривать ее и в качестве непрямого фибринолитического агента. С непрямыми фибринолитическими агентами в настоящее время связывают развитие одного из ведущих направлений тромболитической терапии (Lal et al., 2017).

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ № СП-3906.2021.4.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Biaggio R.T., Silva R.R., Rosa N.G. et al. Purification and biochemical characterization of an extracellular serine peptidase from *Aspergillus terreus*. Prep. Biochem. Biotechnol. 2016. V. 46 (3). P. 298–304. <https://doi.org/10.1080/10826068.2015.1031387>
- Chakrabarti S.K., Matsumura N., Ranu R.S. Purification and characterization of an extracellular alkaline serine protease from *Aspergillus terreus* (IJIRA 6.2). Curr. Microbiol. 2000. V. 40 (4). P. 239–244.
- Chimbekujwo K.I., Ja'afaru M.I., Adeyemo O.M. Purification, characterization and optimization conditions of protease produced by *Aspergillus brasiliensis* strain BCW2. Sci. Afr. 2020. V. 8. A.e00398.
- de Lima E.E., Franco D.G., Galeano R.M.S. et al. Biochemical characterization of a partially purified protease from *Aspergillus terreus* 7461 and its application as an environmentally friendly dehairing agent for leather industry. Prep. Biochem. Biotechnol. 2021. V. 51 (2). P. 1–11. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1815058>
- Han M.J., Kim N.J., Lee S.Y. et al. Extracellular proteome of *Aspergillus terreus* grown on different carbon sources. Curr. Genet. 2010. V. 56 (4). P. 369–382. <https://doi.org/10.1007/s00294-010-0308-0>
- Kotb E., Helal G.E.-D.A., Edries F.M. Screening for fibrinolytic filamentous fungi and enzymatic properties of the most potent producer, *Aspergillus brasiliensis* AUMC 9735. Biologia. 2015. V. 70 (12). P. 1565–1574. <https://doi.org/10.1515/biolog-2015-0192>
- Lal V. Fibrinolytic drug therapy in the management of intravascular thrombosis, especially acute myocardial infarction. A review. Asian J. Pharm. Clin. Res. 2017. V. 2. A. 555593.
- Osmolovskiy A.A., Orekhova A.V., Conti E. et al. Production and stability of the proteinase complex from *Aspergillus ochraceus* L-1 with fibrinolytic and anticoagulant activity. Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2020. V. 75 (3). P. 130–135.
- Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreyer V.G. et al. Fibrinolytic and collagenolytic activity of extracellular proteinases of the strains of micromycetes *Aspergillus ochraceus* L-1 and *Aspergillus ustus* 1. Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2016. V. 71 (1). P. 62–66.
- Osmolovskiy A.A., Zvonareva E.S., Kreyer V.G. et al. The effect of micromycete extracellular proteases of *Aspergillus* genus on the proteins of haemostatic system. Russ. J. Bioorg. Chem. 2014. V. 40 (6). P. 634–639.
- Popova E.A., Kreyer V.G., Komarevtsev S.K. et al. Properties of extracellular proteinase of the micromycete *Aspergillus ustus* 1 and its high activity during fibrillar-protein hydrolysis. Appl. Biochem. Microbiol. 2021. V. 57 (2). P. 200–205.
- Popova E.A., Osmolovskiy A.A., Kreier V.G. et al. Production by *Aspergillus ustus* strain of proteinases highly active against fibrillar proteins. Mikologiya i fitopatologiya. 2019. V. 53 (4). P. 229–235. <https://doi.org/> (in Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0026364819040111>
- Ramirez-Garcia A., Pellon A., Buldain I. et al. Proteomics as a tool to identify new targets against *Aspergillus* and *Scedosporium* in the context of cystic fibrosis. Mycopathologia. 2018. V. 183 (1). P. 273–289. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0139-3>
- Saritha M., Singh S., Tiwari R. et al. Do cultural conditions induce differential protein expression: profiling of extracellular proteome of *Aspergillus terreus* CM20. Microbiol. Res. 2016. V. 192. P. 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.006>
- Serba E.M., Tadzhibova P.Yu., Rimareva L.V. et al. Obtaining peptide and amino acid ingredients by enzymatic treatment of *Aspergillus oryzae* biomass. Mikologiya i fitopatologiya. 2020. V. 54 (1). P. 23–32 (in Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0026364820010079>
- Sharkova T.S., Kurakov A.V., Osmolovskiy A.A. et al. Screening of producers of proteinases with fibrinolytic and collagenolytic activities among micromycetes. Microbiologiya. 2015. V. 84 (3). P. 359–364.
- Shilpa H.K., Ambekar J.G., Dongre N.N. et al. Application of fibrinolytic enzyme from *Aspergillus tamarii* – in vitro studies. Eur. J. Pharm. Med. Res. 2019. V. 6 (12). P. 560–562.
- Zvonareva E.S., Osmolovskiy A.A., Kreier V.G. et al. Production of proteinase with plasmin-like and prekallikrein activating activity by the micromycete *Aspergillus terreus*. Appl. Biochem. Microbiol. 2018. V. 54 (2). P. 206–210. <https://doi.org/10.1134/S0003683818020151>
- Zvonareva E.S., Osmolovskiy A.A., Kreyer V.G. et al. Identification of targets for extracellular proteases activating proteins of the haemostatic system produced by micromycetes *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus terreus*. Russ. J. Bioorg. Chem. 2015. V. 41 (5). P. 500–505 (in Russ.).

Попова Е.А., Осмоловский А.А., Крейер В.Г. и др. (Popova et al.) Продукция штаммом *Aspergillus ustus* протеиназ, высокоактивных в отношении фибриллярных белков. Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 4. С. 229–235.

Серба Е.М., Таджибов П.Ю., Римарева Л.В. и др. (Serba et al.) Получение пептидно-аминокислотных ингредиентов на основе грибной биомассы *Aspergillus oryzae* // Микология и фитопатология. 2020. Т. 54. № 1. С. 23–32.

## Thrombolytic Potential of Extracellular Proteinase of Micromycete *Aspergillus terreus* 2

A. A. Osmolovskiy<sup>a,b,#</sup>, E. S. Zvonareva<sup>b,##</sup>, V. G. Kreyer<sup>a,###</sup>, N. A. Baranova<sup>a,####</sup>,  
I. B. Kotova<sup>a,#####</sup>, and N. S. Egorov<sup>c,#####</sup>

<sup>a</sup> Moscow M.V. Lomonosov State University, Moscow, Russia

<sup>b</sup> National Research University Higher School of Economics, Moscow, Russia

<sup>c</sup> International Biotechnological Center of M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>#</sup>e-mail: aosmol@mail.ru

<sup>##</sup>e-mail: zvonareva.es@gmail.com

<sup>###</sup>e-mail: vkreyer@yandex.ru

<sup>####</sup>e-mail: vkreyer@yandex.ru

<sup>#####</sup>e-mail: kira1959@mail.ru

<sup>#####</sup>e-mail: nsegorov21@mail.ru

A high thrombolytic potential of the extracellular proteinase of *Aspergillus terreus* 2 micromycete has been shown: the proteinase is capable of completely hydrolyzing newly formed thrombi in less than 120 min and has pronounced fibrinolytic and fibrinogenolytic activity. In addition, the plasminogen activating activity of proteinase was found, which allows us to consider it as an indirect fibrinolytic agent.

**Keywords:** *Aspergillus terreus*, fibrinolytic enzymes, proteinases of micromycetes, thrombolysis