

Том 58, Номер 3

ISSN 0026-3648

Май–Июнь 2024



МИКОЛОГИЯ И ФИТОПАТОЛОГИЯ



НАУКА
— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 58, номер 3, 2024

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

- Микроскопические культивируемые грибы предгорных лесов национального парка Бузямап (Вьетнам)
И. И. Антонова, А. В. Александрова, Е. А. Антонов, И. А. Волынкина, Д. А. Лукьянов 177
- Микобиота корневой системы *Goodyera repens* (Orchidaceae) в популяциях из трех регионов России
Н. М. Бибииков, Е. Ю. Воронина, А. В. Кураков 195
- Seasonal dynamics of sporophore formation of *Mухomycetes* in Polistovo-Lovatskaya bog system (Pskov and Novgorod regions, Russia)
V. I. Gmshinskiy, N. I. Borzov, F. M. Bortnikov, A. V. Matveev 205
- Комплексы культивируемых микромицетов торфяных почв бугристых болот в горных ландшафтах Приполярного Урала
В. А. Ковалева, Ю. А. Виноградова, Е. М. Лантева, С. В. Денева, Е. М. Перминова 216
- Molecular identification of wood-decaying fungi of *Armillaria* genus widespread in Eastern Siberia and the Far East of Russia using ITS, IGS-1-1 and *Tef-1a* genetic markers
A. I. Kolesnikova, I. N. Pavlov, Y. A. Litovka, N. V. Oreshkova, A. A. Timofeev, E. A. Litvinova, S. M. Petrenko, K. V. Krutovsky 231

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

- Расовый состав и изменчивость гена *ToxA* в географически отдаленных популяциях *Pyrenophora tritici-repentis*
Н. В. Мироненко, А. С. Орина, Н. М. Коваленко, Н. Г. Зубко 246

ХРОНИКА

- Памяти Лидии Васильевны Гарибовой (1933–2024) 254
-

Contents

Vol. 58, No. 3

BIODIVERSITY, TAXONOMY, ECOLOGY

- Soil-inhabiting microscopic fungi of the foothill forests of Bu Gia Map National Park (Vietnam)
I. I. Antonova, A. V. Aleksandrova, E. A. Antonov, I. A. Volynkina, D.A. Lukyanov 177
- Root-associated mycobiota of *Goodyera repens* (Orchidaceae) populations from three Russian regions
N. M. Bibikov, E. Yu. Voronina, A. V. Kurakov 195
- Seasonal dynamics of sporophore formation of *Myxomycetes* in Polistovo-Lovatskaya bog system (Pskov and Novgorod regions, Russia)
V. I. Gmoshinskiy, N. I. Borzov, F. M. Bortnikov, A. V. Matveev 205
- Complexes of cultivated microfungi from peatlands in the mountain landscapes of the Sub-Polar Urals
V. A. Kovaleva, Yu. A. Vinogradova, E. M. Lapteva, C. V. Deneva, E. M. Perminova 216
- Molecular identification of wood-decaying fungi of *Armillaria* genus widespread in Eastern Siberia and the Far East of Russia using ITS, IGS-1-1 and *Tef-1a* genetic markers
A. I. Kolesnikova, I. N. Pavlov, Y. A. Litovka, N. V. Oreshkova, A. A. Timofeev, E. A. Litvinova, S. M. Petrenko, K. V. Krutovsky 231
-

PHYTOPATHOGENIC FUNGI

- Racial composition and variability of the *ToxA* gene in geographically distant populations of *Pyrenophora tritici-repentis*
N. V. Mironenko, A. S. Orina, N. M. Kovalenko, N. G. Zubko 246
-

CHRONICLE

- In Memoriam. Lidiya Vasilyevna Garibova (1933–2024) 254
-
-

УДК 582.28 : 631.466.1(597.3)

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ГРИБЫ ПРЕДГОРНЫХ ЛЕСОВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА БУЗЯМАП (ВЬЕТНАМ)

© 2024 г. И. И. Антонова^{1,*}, А. В. Александрова^{1,2,**}, Е. А. Антонов^{1,2,3,***},
И. А. Волинкина^{1,4,****}, Д. А. Лукьянов^{1,4,****}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

² Совместный Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр,
000084 Ханой, Вьетнам

³ Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, 123182 Москва, Россия

⁴ Сколковский институт науки и технологий, 121205 Москва, Россия

*e-mail: antirina22@yandex.ru

**e-mail: alina-alex2011@yandex.ru

***e-mail: antonovea@my.msu.ru

****e-mail: info@mail.bio.msu.ru

Поступила в редакцию 21.09.2023 г.

После доработки 12.12.2023 г.

Принята к публикации 28.12.2023 г.

Изучен видовой состав культивируемых микроскопических грибов в почве и опаде диптерокарпового, лагерстремиевого и пальмового участков лесов национального парка Бузямпа (Вьетнам, провинция Бинь-фьюк), расположенного в предгорной части Центрального нагорья. Выявлено 88 видов микроскопических грибов, относящихся к 42 родам, из них 13 видов отмечено для Вьетнама впервые. Видовой состав отличается высоким разнообразием и характерными для тропических лесов особенностями таксономической структуры. Отдел *Mucoromycota* представлен двумя видами, один вид — *Rhizoctonia solani* — относится к отделу *Basidiomycota*, остальные 85 видов принадлежат к отделу *Ascomycota*, ведущими порядками являются *Eurotiales* (42 вида) и *Hypocreales* (17 видов). Выявлено сравнительно большое количество потенциально фитопатогенных грибов и стерильных форм. В группу доминантов на всех изученных субстратах входят три вида: *Aspergillus tubingensis*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma harzianum*. В национальном парке Бузямпа выявлены такие редкие виды, как *Chaetomella circinoseta* и *C. raphigera*, выделяемые преимущественно из тропических почв и растений. В почве на участке леса под лагерстремиями выделен редкий микромицет *Heterocephalum taiense*, обладающий уникальной морфологией конидиогенного аппарата. Отмечен редкий гриб, связанный с пальмами — *Endocalyx melanoxanthus*. Микромицет *Thielaviopsis radicola*, являющийся довольно серьезным патогеном финиковой пальмы, обнаружен в почве на участке леса с преобладанием *Lagerstroemia* sp. Комплексы микромицетов изученных участков леса подразделены на группы по типам изученных местообитаний и по типам субстратов. Наиболее сходными оказались образцы почвы и опада в пределах одного биотопа. Оценка степени изученности видового состава почвообитающих микромицетов для всех местообитаний невелика — от 56 до 78%.

Ключевые слова: биологическое разнообразие, микобиота, тропические леса, почвенные микромицеты.

DOI: 10.31857/S0026364824030017, **EDN:** vjepki

ВВЕДЕНИЕ

Площади ненарушенных лесов во всем мире стремительно сокращаются в связи с антропогенным нарушением экосистем и глобальным изменением климата, это ведет к сокращению видового разнообразия всех групп организмов, населяющих эти леса, в том числе и грибов (Tsui et al., 1998). По этой причине в настоящее время крайне важными являются исследования биоразнообразия таких растительных

сообществ. Микроскопические грибы в тропических регионах являются важным компонентом почвенной биоты, обычно составляют большую часть биомассы микроорганизмов и выполняют ряд важных функций, связанных с поддержанием стабильности экосистемы (Devi et al., 2012). Грибы-сапротрофы являются основными деструкторами растительных остатков, поэтому и их видовой состав может коррелировать с видами растений, формирующими сообщества, в которых они обитают (Hawksworth, 2004).

В последние десятилетия грибам тропиков уделяется особое внимание, активизированы исследования всех групп грибов ненарушенных природных местообитаний, являющихся местом сохранения видового богатства и способных его поддерживать. Из выделенных в ходе таких работ чистых культур микромицетов формируются коллекции (Brandt et al., 2018), с которыми можно вести дальнейшие исследования в области филогении, физиологии и выявлять биотехнологический потенциал этих видов (Bills et al., 2004; Lihovidov et al., 2017a, 2017b).

Значительная часть исследований микромицетов тропиков имеет прикладной характер: изучают патогенов растений (Abbas et al., 2003; Hyde et al., 2007; Ammar, 2011; Gajbhiye et al., 2016) или животных и человека (Ashbee, Evans, 2002), а также грибы-продуценты биологически активных веществ (Visalakshi et al., 2009; Brandt et al., 2018). Много работ посвящено изучению видового состава грибов, специфически связанных с определенными видами растений (Hyde, 1988; Hyde et al., 2000; Frohlich, Hyde, 2000; Guu et al., 2010; Taylor, Hyde, 2003). Например, в Юго-Восточной Азии изучали микромицеты, связанные с бамбуками: отмечено более 1100 видов по всему региону, а в тропических бамбуковых лесах — 290 видов, среди которых представители как сумчатых, так и базидиальных грибов, вступающих в различные трофические взаимодействия с этими растениями (Hyde et al., 2002; Shukla et al., 2012). На представителях семейства Pandanaceae отмечено более 114 родов и 226 видов (Whitton et al., 2012). В Таиланде, как связанные с пальмами, отмечены микромицеты, среди которых описаны новые для науки виды (Somrithipol, Jones, 2006; Konta et al., 2016). Показано, что ротанговые пальмы из рода *Calamus* (*Arecaceae*) являются богатым резервуаром уникального разнообразия грибов, относящихся по большей части к отделу *Ascomycota* (Frohlich, Hyde 2000; Hyde et al., 2000; Konta et al., 2016).

Тропические леса отличаются высоким видовым разнообразием древесных пород и, как правило, являются полидоминантными (Kuznetsov, 2016). В связи с этим при выборе территории для микологических исследований в таких местах очень трудно, а зачастую просто невозможно, выделить участки с преобладанием определенного вида деревьев. Однако на территории национального парка Бузямап сформировались локальные участки леса с практически монодоминантным древостоем, что дает возможность анализировать влияние фитоценоза на видовой состав комплекса микромицетов.

Целью данной работы стало исследование таксономической структуры и функциональной активности мицелиальных микроскопических грибов в почве

и на растительном опаде трех различных биотопов предгорных тропических лесов в национальном парке Бузямап (Вьетнам), а также предпринята попытка выявить связи между составом растительного сообщества и комплексами микромицетов почвы и связанных с ней субстратов. Ранее нами уже было проведено изучение микроскопических грибов равнинных, предгорных и горных лесов различных регионов Вьетнама (Kalashnikova, Aleksandrova, 2014, 2015; Kalashnikova et al., 2016; Aleksandrova, Aldobaeva, 2018). Данная статья продолжает эту серию исследований и дополняет данные о микромицетах природных местообитаний Вьетнама.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место сбора материала. Национальный парк Бузямап расположен на юго-западе Вьетнама в провинции Биньфыок, в переходной зоне между центральной горной местностью (Центральное нагорье) и низменностью южного Вьетнама. Он был выделен в качестве особо охраняемой природной зоны в 1995 г. для сохранения редких видов растений, относящихся к семейству *Fabaceae* и видов рода *Lagerstroemia*, а также исчезающих птиц и млекопитающих (Van Sung, 1995). В 2002 г. эта территория получила статус национального парка. Рельеф территории очень изрезанный, преобладают невысокие горные гряды, между которыми расположены долины рек. Большую часть территории парка занимают тропические полулистопадные полидоминантные леса, на нарушенных территориях сформировались бамбуковые сообщества (Sterling et al., 2006). Мягкие климатические условия, разнообразие форм рельефа местности и режима увлажнения, а также высокий уровень эндемизма растений создают уникальные экологические ниши, обеспечивающие разнообразие видов грибов.

Материал в национальном парке был собран в рамках работ Российско-Вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра, на базе которого идут комплексные исследования структурно-функциональной организации тропических лесных экосистем и оценка современного состояния биологического разнообразия растительного и животного мира, в том числе и микроскопических грибов. Сбор почвы и растительного опада (по 10 образцов каждого субстрата) для выделения почвообитающих микромицетов был проведен в начале влажного сезона (май 2013 г.) в трех разных биотопах предгорного тропического леса:

1. Первичный диптерокарповый лес на гряде с *Dipterocarpus costatus* (*Dipterocarpaceae*) (БЗМ-Д, 12.1975° с.ш. и 107.205278° в.д., высота над ур. м. 480 м), почва красно-желтая ферраллитная, лиственный опад в момент сбора лежал толстым слоем и не затронут разложением.

2. Лагерстремиевый лес на второй прирусловой террасе реки Ка с преобладанием *Lagerstroemia* sp. (*Lythraceae*) (БЗМ-Л, 12.198333° с.ш. и 107.206667° в.д., 440 м), почва бурая ферралитная, слой опада не полностью покрывает почву, частично фрагментирован и унесен термитами.

3. Пальмовый лес в заливаемой низине прирусловой части реки Ка с *Arenga westerhoutii* (*Arecaceae*) (БЗМ-Па, 12.211389° с.ш. и 107.208611° в.д., 370 м) почва аллювиальная супесчаная, опад скудный, смывался потоками воды во время дождей.

Выделение почвообитающих микромицетов. Выделение грибов осуществляли методом посева из серийных разведений З. Ваксмана в модификации Д.Г. Звягинцева на агаризованные питательные среды (Methods., 1991). Для посева выбрано две среды: модифицированная среда Чапека – Докса с содержанием сахарозы 0.3% и сусло-агар, антибиотик – тетрациклин (0.001 г/л среды), разведение в 1000 раз, пятикратная повторность. Выделенные штаммы микромицетов хранятся в микропробирках при –70 °С в коллекции кафедры микологии и альгологии МГУ.

Идентификация. Видовая принадлежность грибов установлена по культурально-морфологическим признакам, использовали общепринятые определители и статьи, содержащие обработки отдельных родов и описания видов (Ellis, 1993; Ramirez, 1982; Domsch et al., 2007 и др.). Наименования видов и систематическое положение дано по базам данных MycoBank Fungal databases (2023) и CABI Bioscience Databases Index Fungorum (2023).

Молекулярная идентификация. В том случае, когда идентификация только на основе микроморфологии неоднозначна, были применены молекулярные методы. Для изолятов, не дающих спороношение

в культуре (стерильных форм), использовали участок ITS, считающийся универсальным генетическим ДНК-штрихкодом для грибов (Schoch et al., 2012; Vu et al., 2019). Для рода *Talaromyces* был выбран участок гена бета-тубулина (*BenA*): он ранее предложен Yilmaz с соавторами (2014) в качестве вторичного маркера для этого рода и показал более высокую разрешающую способность, чем ITS (Tsang et al., 2018).

Геномную ДНК экстрагировали из мицелия используя лизирующий буфер (2%-й ЦТАБ (цетилтри-метиламмонийбромид), 1.4 М NaCl, 20 мМ ЭДТА, 100 мМ Трис-НСl pH 8). ПЦР проводили с использованием готовой смеси ScreenMix (ООО “Евроген”, Россия) в термоциклере T100 (Bio-Rad) с праймерами ITS1/ITS4 (White et al., 1990) для стерильных культур и парой праймеров Bt2a/Bt2b (Glass, Donaldson, 1995) для рода *Talaromyces*. После амплификации ПЦР-продукты разгоняли в 1%-м агарозном геле с бромистым этидием и визуализировали в УФ свете. Продукты амплификации вырезали из геля и очищали на спин-колонках с кремниевой мембраной с помощью набора Cleanup Standard (ООО “Евроген”, Россия). Секвенирование проводила компания “Евроген” (Москва, Россия) по протоколу BigDye (ABI Prism) на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730xl (Applied Biosystems, Калифорния, США) как с прямым, так и с обратным праймерами.

Полученные последовательности ДНК были попарно выровнены и объединены в программе MEGA11 (Tamura et al., 2021). Поиск сходных нуклеотидных последовательностей проведен по базе данных NCBI (GenBank) при помощи BLAST. Вновь полученные

Таблица 1. Последовательности ДНК, депонированные в базу данных NCBI (GenBank)

Видовая принадлежность	№ штамма	Локус	№ в Генбанке
<i>Talaromyces albobiverticillius</i> (H.M. Hsieh, Y.M. Ju et S.Y. Hsieh) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert	1826	BenA	OR180088
» »	1828	BenA	OR180089
» »	1875	BenA	OR180090
» »	2127	BenA	OR333985
<i>T. stollii</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad et Samson	1878	BenA	OR180091
<i>Talaromyces</i> sp. 1	1971	BenA	OR180092
<i>T. siamensis</i> Samson, N. Yilmaz et Frisvad	2134	BenA	OR180093
<i>Talaromyces</i> sp. 2	2126	BenA	OR333984
<i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn	FV-13 30 WSM 30A	ITS	OR398668
» »	FV-13 243 LSM 48A	ITS	KP747696
<i>Cordana terrestris</i> (Timonin) Hern.-Restr., Gené et Guarro	FV-13 87 DM 45A	ITS	OR398669
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> A.J.L. Phillips, A. Alves et Crous	FV-13 69 DSM 56A	ITS	OR398670
<i>Pyrenochaetopsis leptospora</i> (Sacc. et Briard) Gruyter, Aveskamp et Verkley	FV-13 39 DSM 60A	ITS	OR398671
<i>Pestalotiopsis vismiae</i> (Petr.) J. Xiang Zhang et T. Xu	FV-13 47 80A	ITS	KP747709

последовательности ДНК, как ITS, так и BenA были депонированы в GenBank (табл. 1).

Обработка данных. Представленность видов оценивали по показателям пространственной частоты встречаемости и относительного обилия видов (Mirchink, 1982; Zak, Willig, 2004). Для характеристики видового состава почвенных грибов разных местообитаний использовали понятие комплекса типичных видов, выделяемого на основе частоты встречаемости (Mirchink, 1982). В качестве показателя разнообразия видов в работе был использован индекс разнообразия Шеннона, а также обратная форма индекса Симпсона. β -разнообразие участков было определено с помощью расчета коэффициентов сходства (коэффициенты Сёрнсена и Жаккара).

Для визуализации сходства комплексов микробиот из образцов использовали стандартные методы ординации: проведен анализ главных компонент в программе PCO3 (Anderson, 2003). Оценка степени изученности видового состава была проведена в программе EstimateS8.0 (Colwell, 2006). Использован метод построения кривых разряжения Колдуэлла – Мао (потенциальные кривые накопления, построенные методом экстраполяции), а также расчет индексов оценки видового богатства алгоритмом “складного ножа” второго уровня (Jack2) и Чао второго уровня (Chao2). Для схематического изображения наличия общих видов между различными местообитаниями была построена диаграмма Венна с использованием электронного ресурса (<http://www.interactivenn.net/>; Heberle et al., 2015).

Оценка антибиотической активности в отношении модифицированных штаммов *Escherichia coli*. Для исследования было отобрано 120 штаммов грибов, выделенных из всех исследованных местообитаний. Антимикробное действие определяли методом диффузии из агаровых блоков и из лунок. Антибиотическая активность была исследована на штаммах *Escherichia coli*: JW5503 Δ tolC (Baba et al., 2006), трансформированном репортерной плазмидой pDualrep2 (Amp^R) (Osterman et al., 2016), и BW25113 lptD^{mut} (Orelle et al., 2013), трансформированном pDualrep2 (Kan^R). Для проведения анализа клетки *E. coli* наносили на агаризованную среду LB с добавлением ампициллина (100 мкг/мл) или канамицина (50 мкг/мл) соответственно. В качестве контролей репортерной системы использовали антибиотики эритромицин (5 мкг) и левофлоксацин (25 нг). После нанесения образцов чашки с клетками инкубировали 18 ч при температуре 37 °C. Для визуализации результатов полученные чашки сканировали при помощи системы ChemiDoc (Bio-Rad, Калифорния, США) в каналах Cy3 (для детекции индукторов SOS-ответа: при их наличии

экспрессируется белок TurboRFP) и Cy5 (для детекции ингибиторов биосинтеза белка: при их наличии экспрессируется белок Katushka2S).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследованных образцах почвы и опада с трех участков предгорных тропических лесов национального парка Бузямап выявлено 88 видов культивируемых микроскопических грибов, относящихся к 42 родам и 15 неспороносящих форм (табл. 2).

Отдел *Mucoromycota* представлен всего двумя видами – *Absidia spinosa* и *A. glauca*, относящимся к порядку *Mucorales*. По данным литературы, эти виды были ранее найдены в почвах Тайваня (Ho et al., 2004), в наших исследованиях особо охраняемых территорий Вьетнама, *A. glauca* была найдена с небольшой частотой в национальном парке Бави, а *A. spinosa* ранее не встречалась. Один вид (исходно – стерильная культура) *Rhizoctonia solani*, на основе молекулярных данных, относится к отделу *Basidiomycota*. Остальные 85 видов принадлежат к отделу *Ascomycota*, ведущие порядки – *Eurotiales* (42 вида) и *Hypocreales* (17 видов).

Наиболее крупные по численности видов роды порядка *Eurotiales* составляют анаморфные грибы, представленные различными видами *Penicillium* (18 видов), *Aspergillus* (11 видов) и *Talaromyces* (11 видов). Доминирование этих родов характерно для почв и связанных с ней субстратов, однако, относительная доля *Penicillium* (21% от общего числа видов в данном исследовании) в тропиках обычно ниже по сравнению с почвами умеренных широт, где она меняется в диапазоне 40–70% (Mirchink, 1988). Большинство выделенных нами представителей родов *Aspergillus* и *Penicillium* по данным литературы (Klich, 2002; Pitt 1979; Domsch et al., 2007) встречаются чаще всего в тропических и субтропических областях.

Показатели численности и разнообразия почвенных микробиот по участкам леса представлены в табл. 3. Численность КОЕ микроскопических грибов в исследованных субстратах была закономерно выше в опаде, чем в почве. Самое высокое видовое богатство было выявлено для комплекса микробиот из образцов почвы с участка пальмового леса, и индексы видового разнообразия там принимали наибольшее значение. Видовое разнообразие комплексов культивируемых микробиот, оцененное с помощью индексов Симпсона и Шеннона, было довольно высоким. В почве всех местообитаний оно выше, чем в опаде, разнообразие сокращается по градиенту от долины реки до гребня хребта.

Кривые рангового распределения видового обилия (рис. 1, А, В, Д) иллюстрируют высокое видовое

Таблица 2. Частота встречаемости (%) микроскопических грибов различных участков лесов национального парка Бузямап

Видовой состав	БЗМ-Л		БЗМ-Па		БЗМ-Д	
	A (s)	A ₀ (l)	A (s)	A ₀ (l)	A (s)	A ₀ (l)
<i>Ascomycota</i>						
<i>Eurotiomycetes</i>						
<i>Eurotiales</i>						
<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	20	10				
<i>A. alliaceus</i> Thom et Church	20		20			
<i>A. clavatus</i> Desm.			10			
<i>A. flavipes</i> (Bainier et R. Sartory) Thom et Church	100			10	10	
<i>A. fumigatus</i> Fresen.		10		10		
<i>A. neoniveus</i> Samson, S.W. Peterson, Frisvad et Varga		50	40	10		
<i>A. niger</i> Tiegh.					10	10
<i>A. parasiticus</i> Speare						10
<i>A. sparsus</i> Raper et Thom			10			
<i>A. tubingensis</i> Mosseray	20	50	20	50	70	100
<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church			20			
<i>Heterocephalum taiense</i> Persiani et Maggi	30					
<i>Penicillium atrofulvum</i> Houbraken, Frisvad et Samson	20				10	
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx	50					
<i>P. citreonigrum</i> Dierckx						10
<i>P. citrinum</i> Thom	70				70	
<i>P. daleae</i> K.M. Zalesky	30				10	90
<i>P. dierckxii</i> Biourge					10	
<i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling			30			
<i>P. herquei</i> Bainier et Sartory		70	30	70	20	
<i>P. implicatum</i> Biourge			70			
<i>P. javanicum</i> J.F.H. Beyma					10	
<i>P. miczynskii</i> K.M. Zaleski		60	10			
<i>P. novae-zeelandiae</i> J.F.H. Beyma	30					
<i>P. ochrochloron</i> Biourge	30	10	60	10	90	80
<i>P. sclerotiorum</i> J.F.H. Beyma	20	100	90	60		40
<i>P. steckii</i> K.M. Zalesky	50	100		80		
<i>Penicillium</i> sp. № 1	60					
<i>Penicillium</i> sp. № 2	40					
<i>Penicillium</i> sp. № 3						20
* <i>Pseudopenicillium megasporum</i> (Orpurt et Fennell) M. Guevara-Suarez, J.F. Cano et J. Guarro					10	
* <i>Talaromyces albobiverticillius</i> (H.M. Hsieh, Y.M. Ju et S.Y. Hsieh) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert	20	20	60	80	30	80
* <i>T. amestolkiae</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad et Samson			70	20		
<i>T. apiculatus</i> Samson, N. Yilmaz et Frisvad			10			
<i>T. flavus</i> Stolk et Samson				40		

Таблица 2. Продолжение

* <i>T. islandicus</i> (Sopp) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert	20					
<i>T. minioluteus</i> (Dierckx) Samson, N. Yilmaz et Frisvad	20					
* <i>T. siamensis</i> Samson, N. Yilmaz et Frisvad	70					
* <i>T. stollii</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad et Samson	70				80	10
<i>T. wortmannii</i> (Klöcker) C.R. Benj.	10				30	
* <i>Talaromyces</i> sp. 1		10				
* <i>Talaromyces</i> sp. 2			50	40		
<i>Sordariomycetes</i>						
<i>Amphisphaeriales</i>						
* <i>Pestalotiopsis vismiae</i> (Petr.) J. Xiang Zhang et T. Xu		90				
<i>Pestalotiopsis</i> sp.2			60	100	10	
<i>Chaetosphaeriales</i>						
<i>Gonytrichum macrocladum</i> (Sacc.) S. Hughes	50		80			
<i>Coniochaetales</i>						
* <i>Cordana terrestris</i> (Timonin) Hern.-Restr., Gené et Guarro			40			
<i>Glomerellales</i>						
<i>Nectriopsis lindauiana</i> (Bubák) Zare et W. Gams	10	30	40	10		
<i>Hypocreales</i>						
<i>Acremonium</i> sp.		10				
<i>Bionectria byssicola</i> (Berk. et Broome) Schroers et Samuels	20		10	20		10
<i>Emericellopsis minima</i> Stolk			40	30		
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.			10	90		
<i>F. stilboides</i> Wollenw.		40				
<i>Gliomastix luzulae</i> (Fuckel) E.W. Mason ex S. Hughes			10			
<i>Mariannaea elegans</i> var. <i>elegans</i> (Corda) Samson	10					
<i>Metacordyceps chlamydosporia</i> (H.C. Evans) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones et Spatafora	10					
<i>Metarhizium marquandii</i> (Masee) Kepler, S.A. Rehner et Humber			10			
<i>Purpleocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Hywel-Jones et Samson	100	90	100	70	80	50
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grutz) Summerb.					10	60
<i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. et Nirenberg		20				
<i>T. atroviride</i> P. Karst.			40		10	10
<i>T. hamatum</i> (Bonord.) Bainier		10			10	10
<i>T. harzianum</i> Rifai	90	100	90	100	80	100
<i>T. koningii</i> Oudem.			10		20	10
<i>T. longibrachiatum</i> Rifai	10					
<i>T. virens</i> (J.H. Mill., Giddens et A.A. Foster) Arx					10	
<i>Microascales</i>						
<i>Pseudallescheria boydii</i> (Shear) McGinnis, A.A. Padhye et Ajello			10			
<i>Thielaviopsis radicola</i> (Bliss) Z.W. De Beer et W.C. Allen				20		
<i>Sordariales</i>						
<i>Botryotrichum atrogriseum</i> J.F.H. Beyma					10	

Таблица 2. Окончание

<i>Chaetomium malaysiense</i> (D. Hawksw.) Arx	10					
<i>Dichotomopilus funicola</i> (Cooke) X. Wei Wang et Samson			40	50	10	
<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen					10	
<i>Xylariales</i>						
<i>Arthrinium phaeospermum</i> (Corda) M.B. Ellis			30	10	30	
* <i>Beltraniella carolinensis</i> (M.E. Barr et Hodges) Jaklitsch et Voglmayr		90				
<i>Endocalyx melanoxanthus</i> var. <i>melanoxanthus</i> (Berk. et Broome) Petch			40	50		
<i>Microdochium bolleyi</i> (R. Sprague) de Hoog et Herm.-Nijh.	30					
* <i>Xylaria</i> sp. 1		50				
* <i>Xylaria</i> sp. 2		10				
* <i>Xylaria</i> sp. 3					10	
<i>Dothideomycetes</i>						
<i>Botryosphaeriales</i>						
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i> (Penz.) Crous et Slippers		100				
* <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> A.J.L. Phillips, A. Alves et Crous				60		
<i>Capnodiales</i>						
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries			10			100
<i>C. oxysporum</i> Berk. et M.A. Curtis		100		10		
<i>Dothideales</i>						
<i>Aureobasidium pullulans</i> var. <i>melanogenum</i> Herm.-Nijh.	90					
<i>Pleosporales</i>						
<i>Coniothyrium</i> sp.				10		
<i>Curvularia eragrostidis</i> (Henn.) J.A. Mey.		10				
<i>Epicoccum nigrum</i> Link		10		10		
* <i>Pyrenochaetopsis leptospora</i> (Sacc. et Briard) Gruyter, Aveskamp et Verkley			70	50		
<i>Leotiomyces</i>						
<i>Helotiales</i>						
<i>Chaetomella circinoseta</i> Stolk	30	30			30	
<i>C. raphigera</i> Swift				10		
<i>Dactylaria</i> sp.					10	
<i>Idriella variabilis</i> Matsush.					10	
<i>Pilidium</i> sp.					10	30
<i>Mucoromycota</i>						
<i>Mucoromycetes</i>						
<i>Mucorales</i>						
<i>Absidia glauca</i> Hagem					10	10
<i>A. spinosa</i> Lendn.		10				
<i>Basidiomycota</i>						
<i>Agaricomycetes</i>						
<i>Cantharellales</i>						
* <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn	10		10			
Культуры, не дающие споронотения	30	100	100	100	100	100

Примечание. *Видовая принадлежность определена с использованием молекулярных методов. Сокращения: БЗМ-Д – диптерокарповый участок; БЗМ-Л – лагестремиевый участок; БЗМ-Па – пальмовый участок; А (s) – верхний горизонт почвы; А₀ (l) – опад.

разнообразие изученных местообитаний (Magurran, 1992). Показано, что на всех участках больше видов выявлено в почве, выше там и выровненность видовых обилий. Графики видов в почве соответствуют модели “разломанного стержня”: наблюдается минимальный угол наклона кривой, что соответствует высокой выровненности видовых обилий. Распределение видов в опаде ближе к логнормальному. Согласно этой модели, обилие видов в биоте определяется действием большого числа приблизительно равнозначных факторов, среди которых не все связаны с ресурсами. Такая ситуация зачастую наблюдается в зрелых и стабильных сообществах, где необходимые ресурсы представлены в достаточном количестве и значительном многообразии (Leontyev, 2008).

Расчет показателей, оценивающих полное видовое богатство (степень изученности видового состава, выявляемого посевом из почвенных разведений) микромицетов (рис. 1, Б, Г, Е, табл. 4) показал, что для всех участков леса степень изученности при однократном исследовании невелика – от 56 до 78% по Chao2, и от 64 до 71% по Jack2, что говорит о значительной гетерогенности видового состава микромицетов изучаемых территорий. Самая высокая степень изученности получилась для участка лагерстремиевого леса, расположенного на второй прирусловой террасе, где самая низкая гетерогенность видового состава. Это может быть связано с тем, что там менее выражено действие таких факторов, как пересыхание или переувлажнение и условия для развития микромицетов наиболее однородны. Дальнейшие исследования этих биотопов перспективны и должны привести к выявлению новых видов.

Сравнение списков видов культивируемых микроскопических грибов исследованных местообитаний в национальном парке Бузямап показало довольно высокое своеобразие видового состава микромицетов изученных местообитаний. На диаграмме Венна видно (рис. 2, А), что общих видов между участками только девять.

Виды-доминанты, характерные для исследованных субстратов, значительно отличались. Доминирующие позиции на участке диптерокарпового леса (БЗМ-Д) так же, как и на остальных участках, занимают виды, связанные с растительными субстратами и почвенные сапротрофы. В почве этого участка леса доминировали шесть видов почвенных сапротрофов: *Penicillium ochrochloron* (90%), *P. aculeatum* (80%), *Purpureocillium lilacinum* (80%), *Trichoderma harzianum* (80%), *Aspergillus tubingensis* (70%) и *Penicillium citrinum* (70%), кроме того, в каждом почвенном образце были найдены колонии дрожжей, они преобладали в почве (100%), но были менее часты (50%) и обильны в листовом опаде. Можно предположить, что они не являются обитателями филопланы, а заселяют этот субстрат из почвы. В листовом опаде диптерокарпового участка в качестве видов-доминантов были отмечены шесть видов: *Aspergillus tubingensis* (100%), *Cladosporium cladosporioides* (100%), *Trichoderma harzianum* (100%), *Penicillium daleae* (90%), *P. ochrochloron* (80%), *Talaromyces albobiverticillius* (80%). Стерильные формы, как и на участке под лагерстремиями, доминировали только в опаде.

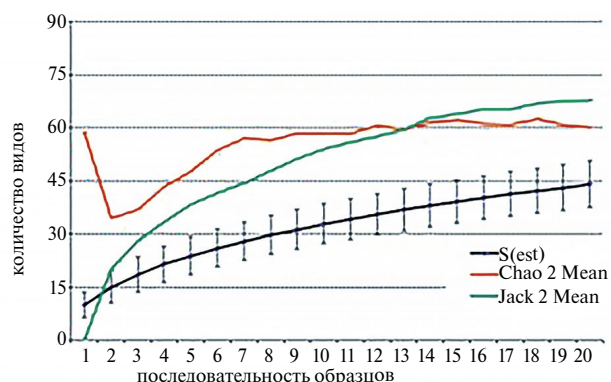
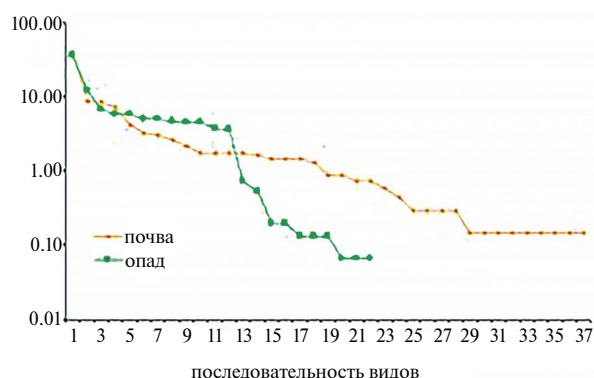
В почве лагерстремиевого леса (участок БЗМ-Л) доминировали (частота встречаемости более 60%) семь видов почвенных сапротрофов: *Purpureocillium lilacinum* (100%), *Aspergillus flavipes* (100%), *Trichoderma harzianum* (90%), *Aureobasidium melanogenum* (90%),

Таблица 3. Количественные характеристики и показатели разнообразия комплексов почвенных микромицетов из почвы и опада трех участков лесов национального парка Бузямап

Характеристика	БЗМ-Д		БЗМ-Л		БЗМ-Па	
	A (s)	A ₀ (l)	A (s)	A ₀ (l)	A (s)	A ₀ (l)
N	10	10	10	10	10	10
NK	682	1523	356	1589	608	1335
KOE	166±6	350±7	105±6	502±23	104±2.4	299±6.4
S	37	22	35	26	40	30
NS	10 (6–19)	10 (5–14)	12 (5–16)	12 (10–17)	16 (11–19)	13 (7–17)
1/D	5.62	5.96	6.29	8.96	18.54	8.4
H	2.47	2.24	2.79	2.24	3.2	2.6
E _H	0.68	0.72	0.78	0.69	0.87	0.76

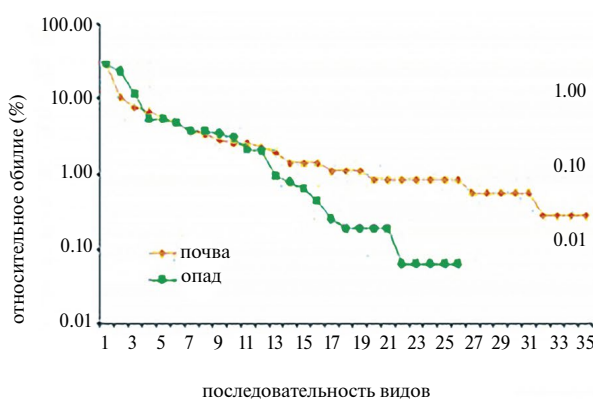
Примечание. Условные обозначения: БЗМ-Д – диптерокарповый участок; БЗМ-Л – лагерстремиевый участок; БЗМ-Па – пальмовый участок; A (s) – верхний горизонт почвы; A₀ (l) – опад; N – число обработанных образцов; NK – количество выделенных колоний; KOE – количество КОЕ микромицетов (тыс./г воздушно-сухого субстрата ± 95%-й доверительный интервал); S – количество обнаруженных видов; NS – Среднее количество видов в образце (пределы варьирования); 1/D – индекс разнообразия Симпсона; H – индекс разнообразия Шеннона; E_H – выровненность.

БЗМ-Д

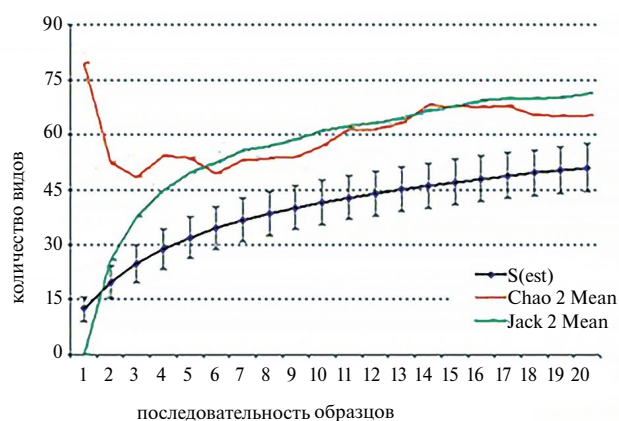


А

БЗМ-Л

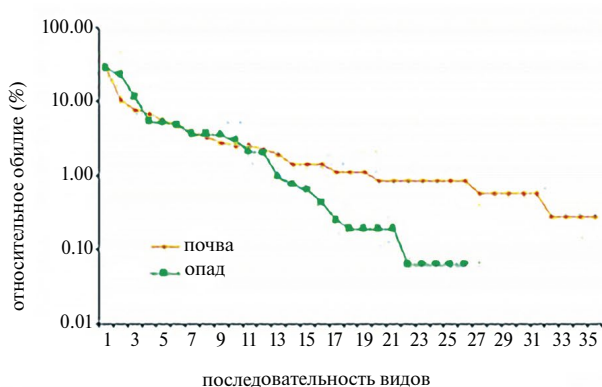


Б

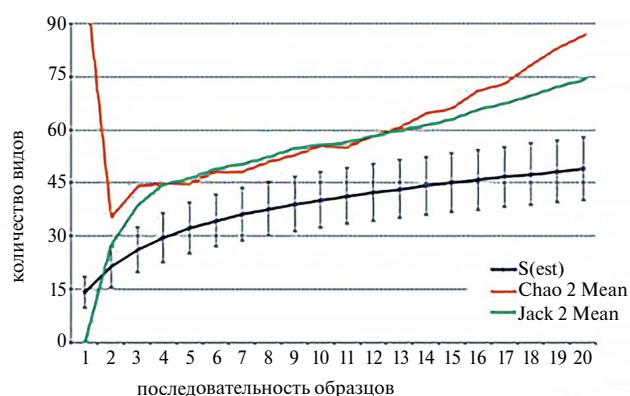


В

БЗМ-Па



Г



Д

Е

Рис. 1. Ранговое распределение видового обилия (А, В, Д) и экстраполяция видового богатства комплексов почвообитающих микромицетов (Б, Г, Е) участков диптерокарпового (А, Б), лагерстремиевого (В, Г) и пальмового (Д, Е) лесов в национальном парке Бузьямап. Вертикальными линиями обозначен 95%-й доверительный интервал. S(est) – число выявленных видов; Chao2 – оценки видового богатства алгоритмом Чао второго уровня; Jack2 – оценки видового богатства алгоритмом “складного ножа” второго уровня.

Таблица 4. Степень изученности видового богатства комплексов микромицетов исследованных местообитаний

Участок леса	Число видов	Алгоритм Чао второго уровня (Chao2)		Алгоритм “складного ножа” второго уровня (Jack2)	
		Предполагаемая оценка видового богатства	Степень изученности	Предполагаемая оценка видового богатства	Степень изученности
БЗМ-Д	44	60	73%	68	64%
БЗМ-Л	51	65	78%	71	71%
БЗМ-Па	49	87	56%	74	66%

Примечание. Условные сокращения – см. табл. 2

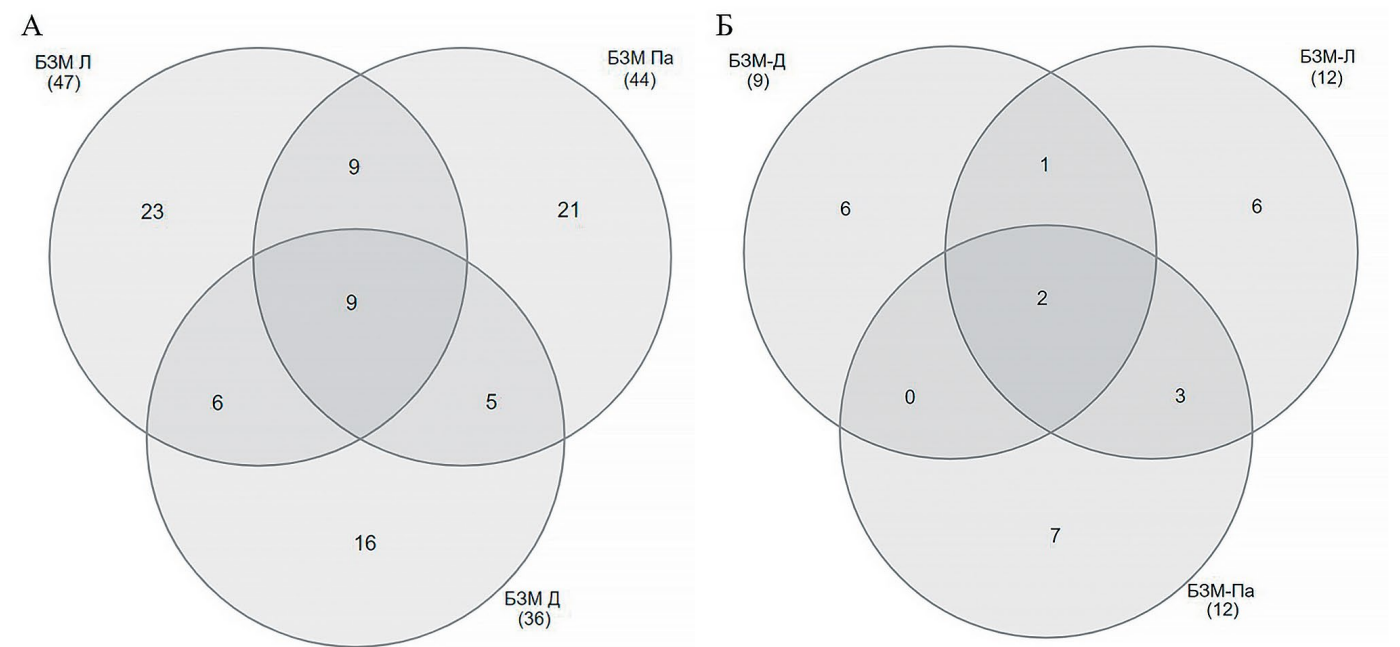


Рис. 2. Диаграмма Венна, отображающая сходство в комплексах видов культивируемых микроскопических грибов исследованных участков лесов в национальном парке Бузымап: А – сравнение общих видовых списков; Б – сравнение видов-доминантов.

Penicillium citrinum (70%), *Talaromyces stollii* (70%), *T. siamensis* (70%). В листовом опаде того же участка леса в качестве видов-доминантов были отмечены *Cladosporium oxysporum* (100%), *Neoscytalidium dimidiatum* (100%), *Penicillium sclerotiorum* (100%), *P. steckii* (100%), *Trichoderma harzianum* (100%), *Pestalotiopsis vismiae* (90%), *Purpureocillium lilacinum* (90%), *Penicillium herquei* (70%). В опаде присутствовало значительное количество стерильных форм.

В почве пальмового леса (БЗМ-Па) доминировали семь видов почвенных сапротрофов и потенциальных патогенов растений: *Purpureocillium lilacinum* (100%), *Trichoderma harzianum* (90%), *Penicillium sclerotiorum* (90%), *Gonytrichum macrocladum* (80%), *Penicillium implicatum* (70%), *Talaromyces amestolkiae* (70%) и *Phoma* sp. (70%). В листовом опаде, собранном с почвы этой территории, в качестве видов-доминантов были отмечены *Trichoderma harzianum* (100%), *Pestalotiopsis* sp. 2 (100%), *Fusarium solani* (90%), *Penicillium steckii* (80%), *Talaromyces* sp. 2 (80%), *Purpureocillium lilacinum*

(70%), *Penicillium herquei* (70%). Стерильные формы, в отличие от лагерстремиевого участка, наблюдались как в почве, так и в опаде.

Из этих данных видно, что списки доминирующих видов практически не перекрываются (рис. 2, Б), общими для всех исследованных участков стали только два из них: *Trichoderma harzianum* и *Purpureocillium lilacinum*.

Индексы сходства, рассчитанные с учетом состава видов (качественных данных), между местообитаниями невелики (табл. 5), наибольшее сходство наблюдается между комплексами видов с почвы и опада участка пальмового леса, а также между комплексами видов с опада лагерстремиевого и пальмового участков лесов. Индексы Чао – Сёренсена (табл. 5), основанные на количественных данных, показывают, что наибольшее сходство наблюдается между комплексами микромицетов в пределах одного участка леса, но между различными типами субстратов. Более наглядную интерпретацию полученных

Таблица 5. Индексы сходства Сёренсена (качественные данные, нижняя часть таблицы) и Чао — Сёренсена (количественные данные, верхняя часть таблицы) между комплексами почвообитающих микромицетов разных субстратов изученных местообитаний

Местообитания	БЗМ-Л s	БЗМ-Л l	БЗМ-Па s	БЗМ-Па l	БЗМ-Д s	БЗМ-Д l
БЗМ-Л s	—	0.504	0.403	0.384	0.389	0.382
БЗМ-Л l	0.328	—	0.376	0.440	0.187	0.300
БЗМ-Па s	0.240	0.333	—	0.810	0.276	0.469
БЗМ-Па l	0.277	0.500	0.600	—	0.263	0.349
БЗМ-Д s	0.278	0.254	0.286	0.299	—	0.606
БЗМ-Д l	0.246	0.333	0.355	0.308	0.508	—

Примечание. Условные обозначения — см. табл. 2.

закономерностей можно получить с использованием метода ординации (рис. 3).

Ординация данных видовому составу комплексов микромицетов из образцов почвы и опада для каждого из трех участков в отдельности (рис. 3, А, Б, В) показывает, что они организуются в относительно компактные группы, соответствующие субстратам.

Ординация, построенная для всех участков лесов национального парка Бузямап (рис. 3, Г), показала своеобразие комплексов микромицетов диптерокарпового леса. Другие участки ближе друг к другу, но все же образуют обособленные группы. Сильнее всего отличаются комплексы микромицетов, выявленные в почве и на листовом опаде лагерьстремиевого леса (БЗМ-Л). Видовой состав почвы этого местообитания был ближе к таковому в почве заливаемого участка с пальмами (БЗМ-Па), а видовой состав микромицетов из опада ближе к таковому из опада диптерокарпового леса (БЗМ-Д), а не между собой, это можно объяснить относительным сходством условий в этих местообитаниях. Отличия между комплексами видов почвы и опада пальмового участка леса (БЗМ-Па) на гидроморфных почвах в долине ручья выражены меньше. Это может свидетельствовать о том, что в более влажных условиях почвообитающие виды раньше начинают заселять опад после сухого сезона.

Результаты исследования антибиотической активности в отношении модифицированных штаммов *Escherichia coli*. Для всех 122 штаммов, которые выделены в результате данного исследования, было проведено первичное тестирование в отношении двух репортерных штаммов бактерий *Escherichia coli*. Помимо диаметра зоны подавления роста бактериальных тест-культур, мы получали первичные данные относительно возможного механизма действия антибиотиков, производимых исследуемыми грибами.

Анализ полученных результатов показал, что среди протестированных штаммов почти треть выделяет вещества, подавляющие рост тест-культур (36 штаммов из 122), из них пять штаммов блокировали синтез бактериальных белков, 12 — вызывали индукцию

SOS-ответа, а механизм действия веществ, выделяемых остальными активными штаммами, неизвестен. Среди протестированных штаммов для дальнейшей работы были отобраны 10 образцов, образующих наибольшие зоны подавления роста и характеризующиеся выраженной индукцией репортера: № 1809 *Pseudobotrytis terrestris*, № 1823 *Penicillium* sp., № 1824 *Penicillium javanicum*, № 1833 *Aspergillus alliaceus*, № 1834 *Aspergillus clavatus*, № 1837 *Trichoderma virens*, № 1841 *Trichoderma virens*, № 1883 *Trichoderma virens* № 1974 *Aspergillus clavatus*, № 2128 *Penicillium aurantiogriseum*. Для данных штаммов были подобраны оптимальные условия культивирования на жидких питательных средах, в дальнейшем анализе использовали полученные культуральные жидкости на седьмые и 10-е сутки роста. С ними в настоящее время ведется работа по идентификации активных соединений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаруженные нами микромицеты относятся к разным эколого-трофическим группам. Наиболее многочисленны сапротрофы, развивающиеся в почве и на разлагающихся растительных остатках — это в первую очередь представители родов *Aspergillus* и *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Humicola*. Представлены также и фитопатогенные грибы — хорошо известные виды родов *Cladosporium*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Pilidium*, *Epicoccum*, способные как к сапротрофному развитию на растительных остатках, так и к активному поражению древесных и травянистых растений. *Chaetomella circinoseta* и *C. raphigera* — редкие виды тропических микромицетов (Rossman et al., 2004), они уже были встречены нами на растительных остатках в светлом диптерокарповом лесу национального парка Йокдон (Aleksandrova, Aldobaeva, 2018). Других видов этого рода на территории Вьетнама в настоящее время не выявлено. Небольшую группу составляют сапротрофы, предпочитающие растительные остатки, из порядка *Xylariales*. Вид *Beltraniella carolinensis*, исходно выделенный и описанный как потенциальный эндофит из живых

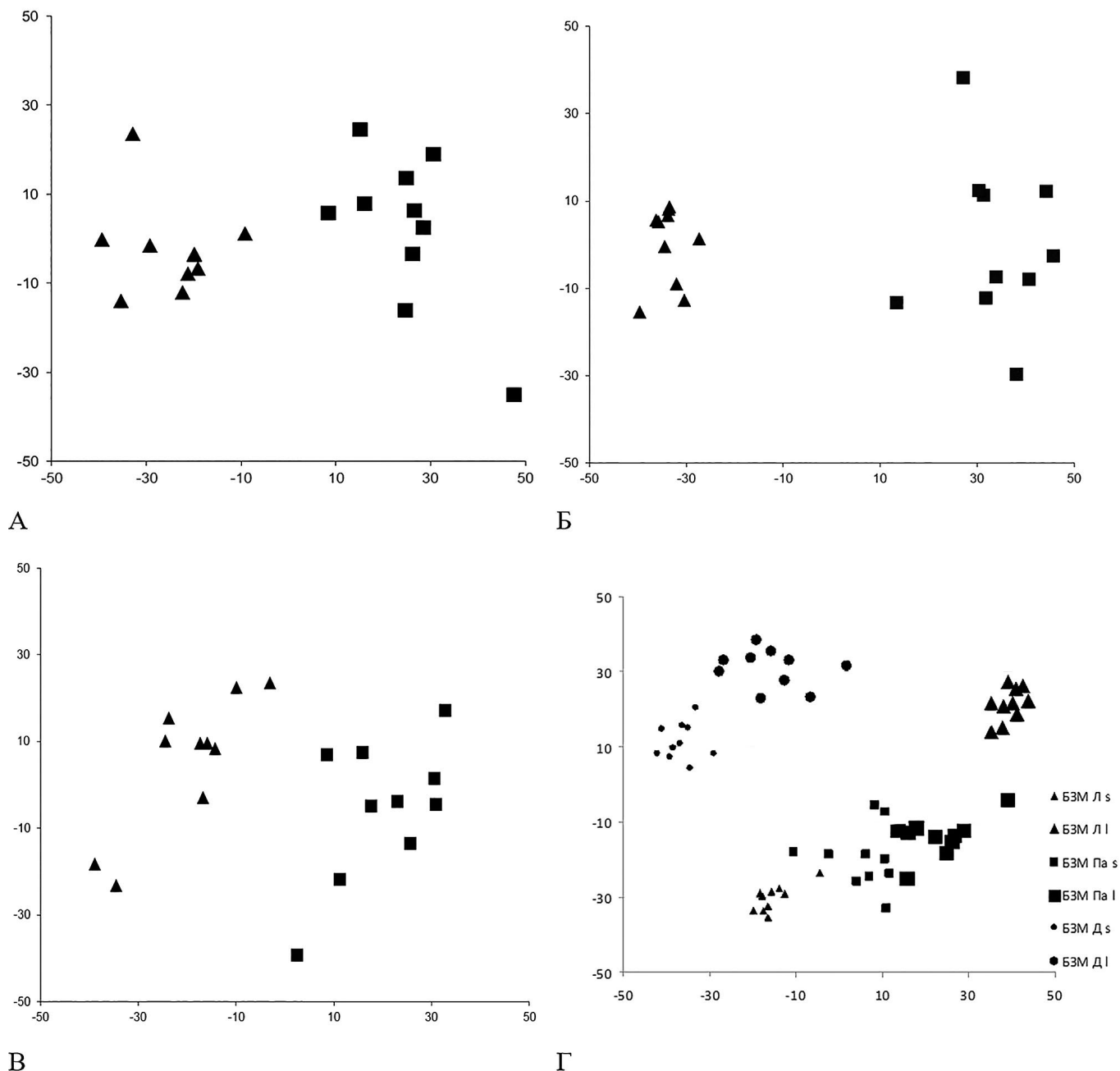


Рис. 3. Ординация комплексов почвообитающих микроскопических грибов, выделенных в национальном парке Бузямап с учетом представленности видов. Метод главных компонент с использованием меры отличия Брея-Куртиса в программе PCO3 (Anderson, 2003): А – участок леса БЗМ-Д; Б – участок леса БЗМ-Л; В – БЗМ-Па; Г – сравнение трех участков лесов, s – верхний горизонт почвы; l – опад. Треугольником обозначены образцы опада, квадратом – образцы почвы. Оси отражают абстрактную величину степени сходства комплексов видов микромицетов в проанализированных образцах.

и опавших листьев *Quercus* в Японии (Shirouzu et al., 2010), был найден в ходе данного исследования с высокой частотой (90%) на растительном опаде участка леса под лагерстремиями (БЗМ-Л). *Endocalyx melanoxanthus* (Vitoria et al., 2011) практически всегда связан с пальмовыми остатками (его патогенность остается недоказанной), в ходе наших исследований этот вид

был встречен на участке (БЗМ-Па) с преобладанием пальм *Arenga westerhoutii* (Arecaceae). Микромицет *Thielaviopsis radicularis* тоже описан как связанный с пальмами вид, он является довольно серьезным патогеном финиковой пальмы (*Phoenix dactylifera*), вызывает различные симптомы поражения (Ammar, 2011) – черную пятнистость, видоизменения

надземных и подземных частей, плодовые гнили. Встречается он повсеместно в тех регионах, которые подходят для роста этих растений, выделяется обычно из живых частей растения или опада (Abbas, Abdulla, 2003; Polizzi et al., 2007; Zaid et al., 2002). Однако он был обнаружен нами в почве на участке леса с преобладанием *Lagerstroemia* sp. Среди энтомопатогенных представителей микобиоты можно отметить *Purpureocillium lilacinum*, который входил в список доминирующих видов и почвы, и опада всех участков лесов национального парка Бузямап, а также *Metacordyceps chlamydosporia*, выделенный с небольшой частотой из почвы участка лагерстремиевого леса.

Следует отметить, что в почве на участке леса под лагерстремиями (БЗМ-Л) нами выделен редкий микромицет из рода *Heterocephalum*, обладающий уникальной морфологией конидиогенного аппарата, *H. taiense*: он описан из лесной почвы национального парка Таи (западная Африка, Кот-д'Ивуар) (Persiani and Maggi 1986), отмечен в почвах Панамы и на Японских островах (Yaguchi et al., 1996). В ходе прошлых исследований территории Вьетнама он был выявлен нами в национальном парке Каттхен в почве площадки "Лагерстремия" с небольшой (10%) частотой (Alexandrova et al., 2011), а в национальном парке Локбак он входил в состав доминирующих видов (80%) в почве площадки ЛБ-12 В полидоминантного тропического леса (Kalashnikova, Alexandrova, 2015).

Интересно отметить виды, которые не встречаются повсеместно, а впервые отмечены в ходе этого исследования для почв Вьетнама, их всего 13: *Absidia spinosa*, *Arthrinium phaeospermum*, *Aspergillus clavatus*, *A. sparsus*, *A. tubingensis*, *Emericellopsis minima*, *Endocalyx melanoxanthus*, *Gliomastix luzulae*, *Mariannaea elegans*,

Metarhizium marquandii, *Penicillium novae-zeelandiae*, *Cordana terrestris*, *Thielaviopsis radicola*.

Среди исследованных нами ранее лесных массивов можно сравнить видовой состав микромицетов национального парка Бузямап с выявленным в предгорном полидоминантном лесном хозяйстве Локбак (уезд Бао Лам, провинция Лам Донг, южный Вьетнам) (Kalashnikova, Alexandrova, 2015), где также были исследованы три участка полидоминантного леса, различающиеся режимом увлажнения. В целом мы наблюдаем различия этих участков лесов как по общему выявленному видовому составу (рис. 4, А), так и при сравнении списка только по доминирующим видам (рис. 4, Б), коэффициенты сходства видового состава тоже оказались невелики: коэффициент Жаккара — 0.29, а коэффициент Сёренсена — 0.45. В выявленном видовом составе территорий двух национальных парков есть ряд общих черт: перекрываются виды рода *Cladosporium*, довольно много видов рода *Penicillium*, среди которых было 11 общих, шесть из семи видов *Trichoderma* spp., найденных в Бузямап, встретились также в Локбак. Такие различия могут быть связаны с составом растительных сообществ на этих территориях.

При сравнении общих видовых списков, выявленных в национальных парках Бузямап и Йокдон, можно обнаружить 15 общих видов, что составляет около 17% от всего их количества в Бузямап (рис. 5, А), а при сравнении видов-доминантов по субстратам был найден всего один общий вид — *Aspergillus tubingensis* (рис. 5, Б).

Полученные данные свидетельствуют об уникальности микобиоты лесов национального парка Бузямап, тем не менее состав видов в этих биотопах имеет ряд общих черт: он отличается высоким

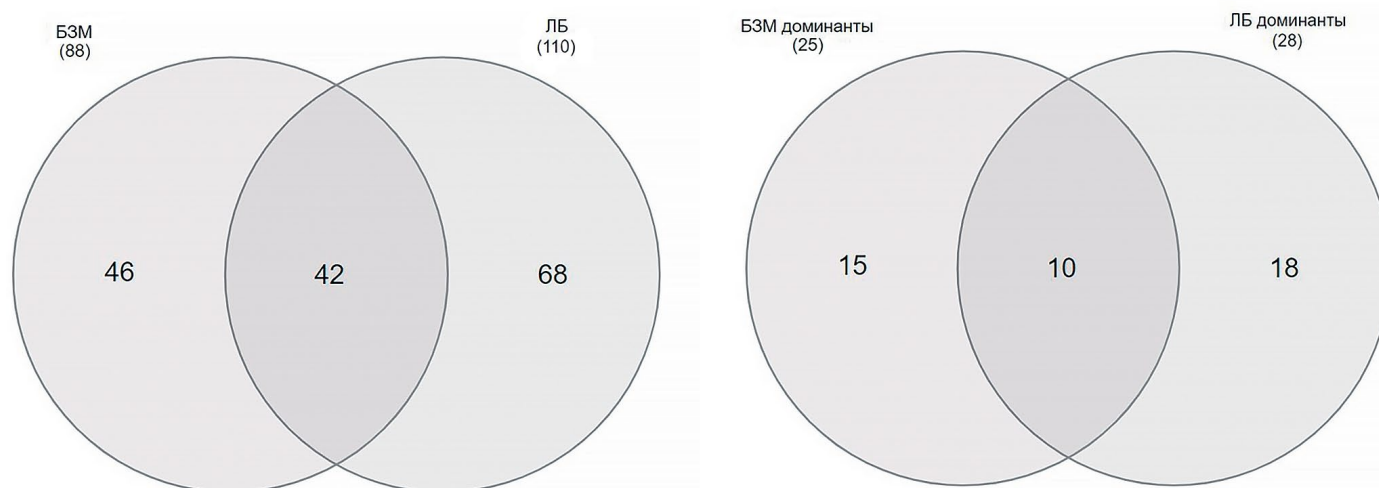


Рис. 4. Диаграмма Венна, отображающая сходство в комплексах видов культивируемых микроскопических грибов исследованных участков лесов в национальных парках Бузямап (БЗМ) и Локбак (ЛБ): А — сравнение общих видовых списков; Б — сравнение видов-доминантов.

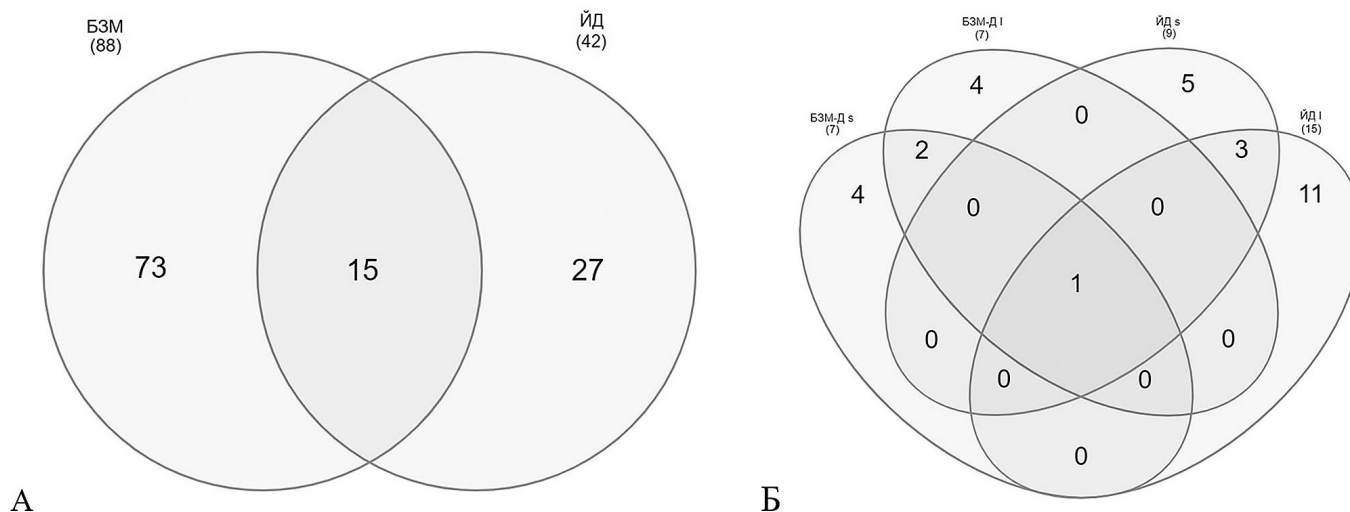


Рис. 5. Диаграмма Венна, отображающая сходство в комплексах видов культивируемых микроскопических грибов исследованных участков лесов в национальных парках Бузямап (БЗМ) и Йокдон (ЙД): А — сравнение общих видовых списков; Б — сравнение видов-доминантов участков диптерокарпового леса по типам субстратов, s — образцы почвы, l — образцы опада.

видовым разнообразием, присутствием редких видов, особенностями таксономической структуры — крайне низкой представленностью отдела *Mucoromycota*, значительной долей видов рода *Aspergillus*, имеющих тропическое распространение и сравнительно большим количеством потенциально фитопатогенных грибов, обилием стерильных форм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа демонстрирует уникальность комплексов микромицетов исследованных участков тропического леса национального парка Бузямап. Существенные отличия в комплексах видов и в их численности в разных биотопах можно объяснить зависимостью разнообразия грибов от состава доминирующих древесных пород, а также режима увлажнения: заселение листового опада микромицетами, характерными для почвы, идет с разной скоростью. Анализируя список выявленных видов, можно встретить типичных почвенных сапротрофов, микоризообразователей, патогенов растений, животных и микопаразитов. В ходе данного исследования найдены редкие виды грибов, в связи с чем дальнейшие работы по выявлению почвенных микромицетов не только на территории Вьетнама, но и в национальном парке Бузямап перспективны и могут привести к обнаружению новых видов. Некоторые роды микроскопических грибов, например *Acremonium* spp., в настоящее время подвергаются ревизии, в связи с чем проведение дополнительных молекулярных исследований в этих группах среди собранных коллекционных штаммов остается актуальным.

Для части коллекционных штаммов была продемонстрирована антагонистическая активность, их метаболиты могут быть использованы в медицинских и биотехнологических целях, работа с ними продолжается.

Исследование таксономической структуры и функциональной активности комплексов микроскопических грибов в почве и на растительном опаде таких интересных, богатых и уникальных природных сообществ, как тропические лесные экосистемы, позволяет провести некоторую оценку роли грибов в протекающих процессах и их взаимосвязей со всеми компонентами биоценоза. В связи с этим необходима интенсификация микологических исследований на новых территориях, сочетающих традиционные подходы с применением современных молекулярных методов.

Авторы выражают благодарность администрации и сотрудникам Тропического центра, организовавших комплексную работу по изучению биологического разнообразия и экологии лесов Вьетнама. Особый вклад внесли содиректора Головного отделения, Нгуен Хонг Зы и А.Н. Кузнецов, содиректора Южного отделения Нгуен Тхи Нга и В.Л. Трунов. Неоценимую помощь в работе оказали Нгуен Данг Хой, Фам Тхи Ха Занг, А.Б. Васильева. Отдельную благодарность хотелось бы высказать директору национального парка Бузямап, Нгуену Дай Фу. Авторы признательны О.П. Коноваловой и К.А. Калашниковой за помощь в проведении молекулярно-генетических исследований стерильных культур. Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300081-7. Работы, связанные с формированием коллекции микромицетов, поддерживаются программой Министерства науки и высшего

образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1396). Работа по исследованию антибактериальной активности поддержана грантом РНФ № 21-64-00006.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abbas E., Abdulla A.* First report of neck bending disease on date palm in Qatar. *Plant Pathology*. 2003. V. 526. P. 790–790. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2003.00899.x>
- Aleksandrova A.V., Aldobaeva I.I.* Soil-inhabited microscopic fungi of the dry deciduous dipterocarpous forest National park Yok Don, Vietnam. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2018. V. 521. P. 22–29 (in Russ.).
- Aleksandrova A.V., Sidorova I.I., Tiunov A.V.* Microfungi of soils and litter of the National park Cat Tien (South Vietnam). *Mikologiya i fitopatologiya*. 2011. V. 45 (1). P. 12–25 (in Russ.).
- Ammar M.I.* First report of *Chalaropsis punctulata* on date palm in Egypt, comparison with other *Ceratocystis* anamorphs and evaluation of its biological control. *Phytoparasitica*. 2011. V. 395. P. 447–453. <https://doi.org/10.1007/s12600-011-0179-z>
- Anderson M.J.* PCO: a Fortran computer program for principal coordinate analysis. Auckland, 2003.
- Ashbee H.R., Evans E.G.V.* Immunology of diseases associated with *Malassezia* species. *Clinical microbiology reviews*. 2002. V. 151. P. 21–57. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.1.21-57.2002>
- Baba T., Ara T., Hasegawa M. et al.* Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection. *Molecular Systems Biology*. 2006. V. 2. P. 2006.0008. <https://doi.org/10.1038/msb4100050>
- Bills G.F., Dombrowski A., Pelvez F., et al.* Recent and future discoveries of pharmacologically active metabolites from tropical fungi. In: *Tropical Mycology 2. Micromycetes*. Eds. R. Watling et al. CABI Publishing, N.Y., 2004, pp. 165–194.
- Brandt S.C., Ellinger B., Van Nguyen T. et al.* A unique fungal strain collection from Vietnam characterized for high performance degraders of bioecological important biopolymers and lipids. *PLOS One*. 2018. V. 13 (8). P. e0202695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202695>
- Capdet M., Romero A.I.* Fungi from palms in Argentina. *Mycotaxon*. 2010. V. 1121. P. 339–355. <https://doi.org/10.5248/112.339>
- Colwell R.K.* EstimateS, Version 8.0: statistical estimation of species richness and shared species from samples. 2006. <http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>
- Devi L.S., Khaund P., Nongkhaw F.M.W. et al.* Diversity of culturable soil microfungi along altitudinal gradients of Eastern Himalayas. *Mycobiology*. 2012. V. 40 (3). P. 151–158. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2012.40.3.151>
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.* Compendium of soil fungi. IHW-Verlag, Ehing, 2007.
- Dzhongman R.G.G., ter Braak S.D.F., van Tongeren O.F.R.* Data analysis in community ecology and landscape. Izdatelstvo RASKHN, Moskva, 1999 (in Russ.).
- Ellis M.B.* Dematiaceous *Hyphomycetes*. CMI, Kew, 1993.
- Fröhlich J., Hyde K.D., Petrini O.* Endophytic fungi associated with palms. *Mycol. Res.* 2000. V. 10410. P. 1202–1212. <https://doi.org/10.1017/S095375620000263X>
- Gajbhiye M., Sathe S., Shinde V. et al.* Morphological and molecular characterization of pomegranate fruit rot pathogen, *Chaetomella raphigera*, and its Virulence Factors. *Indian Journal of Microbiology*. 2016. V. 561. P. 99–102. <https://doi.org/10.1007/s12088-015-0554-4>
- Gams W.* *Cephalosporium*-like *Hyphomycetes*: some tropical species. *Transactions of the British Mycological Society*. 1975. V. 64. P. 389–404.
- Glass N.L., Donaldson G.C.* Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl. Environm. Microbiol.* 1995. V. 61 (4). P. 1323–1330. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>
- Guu J.R., Ju Y.M., Hsieh H.J.* Bionectriaceous fungi collected from forests in Taiwan. *Botanical Studies*. 2010. V. 511. P. 61–74.
- Hawksworth D.* Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Stud. Mycol.* 2004. V. 50. P. 9–18.
- Heberle H., Meirelles G.V., da Silva F.R. et al.* InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. *BMC Bioinformatics*. 2015. V. 161. Article 1. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0611-3>
- Ho H.M., Chuang S.C., Chen S.J.* Notes on *Zygomycetes* of Taiwan IV: three *Absidia* species Mucoraceae. *Fungal Science*. 2004. V. 194. P. 125–131.
- Hyde K.D.* Observations on the vertical distribution of marine fungi on *Rhizophora* spp. at Kampong Danau mangrove, Brunei. *Asian Marine Biology* 5. Hong Kong University Press. 1988. P. 77–82.
- Hyde K.D., Alias S.A.* Biodiversity and distribution of fungi associated with decomposing *Nypa fruticans*. *Biodiversity et Conservation*. 2000. V. 9 (3). P. 393–402. <https://doi.org/10.1023/A:1008911121774>
- Hyde K.D., Bussaban B., Paulus B. et al.* Diversity of saprobic microfungi. *Biodiversity and Conservation*. 2007. V. 161. P. 7–35. <https://doi.org/10.1007/s13225-018-0415-7>
- Hyde K.D., Zhou D., Dalisay T.* Bambusicolous fungi: a review. *Fungal Diversity*. 2002. V. 9. P. 1–14.
- Index Fungorum CABI Bioscience Database. <https://www.indexfungorum.org/>. Accessed 23.07.2023.
- Kalashnikova K.A., Alexandrova A.V.* Soil inhabiting microscopic fungi of the national park “Bi Dup-Nui Ba” South Vietnam. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2014. V. 486. P. 355–364 (in Russ.).
- Kalashnikova K.A., Alexandrova A.V.* Soil-inhabiting microscopic fungi of the piedmont tropical forest Loc Bac Forest Enterprise, South Vietnam. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2015. V. 492. P. 91–101. (in Russ.).

- Kalashnikova K.A., Konovalova O.P., Alexandrova A.V. Soil-inhabiting microfungi of the monsoon dipterocarp forest (the natural reserve Dong Nai, South Vietnam). *Mikologiya i fitopatologiya*. 2016. V. 50 (2). P. 97–107 (in Russ.).
- Kamiyama T., Satoh T., Umino T. et al. Monamidocin, a novel fibrinogen receptor antagonist. II. Biological activity and a structure-activity relationships. *J. Antibiotics*. 1995. V. 48 (11). P. 1226–1233.
<https://doi.org/10.7164/antibiotics.48.1226>
- Klich M. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. *Mycologia*. 2002. V. 941. P. 21–27.
- Konta S., Hongsanan S., Phillips A.J. et al. *Botryosphaeriaceae* from palms in Thailand II—two new species of *Neodeigh-tonia*, *N. rattanica* and *N. rattanicola* from *Calamus rattan* palm. *Mycosphere*. 2016. V. 77. P. 950–961.
<https://doi.org/10.5943/mycosphere/14/1/2>
- Kuznetsov A.N. Structure and dynamics of the monsoon tropical forest in Vietnam. Moscow, MSU, 2016 (in Russ.).
- Leontyev D.V. Floristic analysis in mycology: a textbook for students. Kharkov, 2008 (in Russ.).
- Lihovidov V.E., Aleksandrova A.V., Bystrova E.V. et al. Antibacterial activity of soil fungi of South Vietnam against the causative agent of anthrax. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*. 2017a. V. 7. P. 412–414 (in Russ.).
- Lihovidov V.E., Aleksandrova A.V., Bystrova E.V. et al. Antimicrobial activity of micromycete strains against hospital infections. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*. 2017b. V. 7. P. 242–245 (in Russ.).
- Magurran A.E. Ecological diversity and its measurement. Mir, Moscow, 1992 (in Russ.).
- Methods of soil microbiology and biochemistry. Izdatelstvo MGU, Moscow, 1991 (in Russ.).
- Mycobank Fungal databases. Nomenclature and species banks. 2023. <https://www.mycobank.org/>. Accessed 23.07.2023.
- Mirchink T.G. Soil mycology. Publishing House of Moscow State University, Moscow, 1988 (in Russ.).
- Mirchink T.G., Ozerskaya S.M., Marfenina O.E. Methods for identifying complexes of microscopic fungi typical for specific conditions from their structural characterization. *Nauchnye doklady vysshey shkoly. Biologicheskie nauki*. 1982. V. 11. P. 61–66 (in Russ.).
- Orelle C., Carlson S., Kaushal B. et al. Tools for characterizing bacterial protein synthesis inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*. 2013. V. 57 (12). P. 5994–6004.
<https://doi.org/10.1128/aac.01673-13>
- Osterman I.A., Komarova E.S., Shiryayev D.I. et al. Sorting out antibiotics' mechanisms of action: a double fluorescent protein reporter for high-throughput screening of ribosome and DNA biosynthesis inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*. 2016. V. 60 (12). P. 7481–7489.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02117-16>
- Persiani A.M., Maggi O. A new species of *Heterocephalum* from Ivory Coast soil. *Transactions of the British Mycological Society*. 1986. V. 87. P. 631–635.
- Pfenning L.H., Abreu de L.M. Diversity of microfungi in tropical soils. In: F.M.S. Moreira, J.O. Siqueira, L. Brussaard (eds). Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems. CABI Publishing, Oxfordshire, 2006, pp. 184–205.
- Pitt J.I. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, L., 1979.
- Polizzi G., Castello I., Aiello D. et al. First report of stem bleeding and trunk rot of Kentia palm caused by *Thielaviopsis paradoxa* in Italy. *Plant Disease*. 2007. V. 918. P. 1057–1057.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-91-8-1057A>
- Ramirez C. Manual and atlas of the *Penicillia*. Amsterdam. Elsevier Biomedical Press, N.Y., Oxford, 1982.
- Rossman A.Y., Cathie A.M., Farr D.F. et al. The coelomycetous genera *Chaetomella* and *Pilidium* represent a newly discovered lineage of inoperculate discomycetes. *Mycol. Progress*. 2004. V. 34. P. 275–290.
<https://doi.org/10.1007/s11557-006-0098-4>
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *PNAS*. 2012. V. 109 (16). P. 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Shirouzu T., Hirose D., Tokumasu S. et al. Host affinity and phylogenetic position of a new anamorphic fungus *Beltraniella botryospora* from living and fallen leaves of evergreen oaks. *Fungal Diversity*. 2010. V. 43. P. 85–92.
- Shukla A., Singh A., Tiwari D. et al. Bambusicolous fungi: A reviewed documentation. 2016. *International Journal of Pure and Applied Bioscience (IJPAB)*. V. 4 (2). P. 304–310.
<http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2268>
- Somrithipol S., Jones E.G. *Calcarisporium phaeopodium* sp. nov., a new hyphomycete from Thailand. *Sydowia*. 2006. V. 581. P. 133–141.
- Sterling E.J., Hurley M.M., Minh L.D. Vietnam: a natural history. Yale University Press, New Haven, L., 2006.
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 1. 2021. V. 38(7). P. 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Taylor J.E., Hyde K.D. Microfungi of tropical and temperate palms. Fungal Diversity Press, 2003.
- Tsang C.C., Tang J.Y. M., Lau S.K.P. et al. Taxonomy and evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the omics era — Past, present and future. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2018. V. 16. P. 197–210.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.05.003>
- Tsui K.M., Fryar S.C., Hodgkiss I.J. et al. The effect of human disturbance on fungal diversity in the tropics. *Fungal Diversity*. 1998. V. 1. P. 19–26.
- Van Sung C. The system of protected areas in Vietnam. Environment and bioresources of Vietnam. Hanoi. The Gioi Publishers. 1995. P. 57–128.
- Visalakshi S., Muthumary J. Antimicrobial activity of the new endophytic *Monodictys castaneae* SVJM139 pigment and its optimization. *African J. Microbiol. Res*. 2009. V. 39. P. 550–556.
- Vitoria N.S., Cavalcanti M.A.Q., Luz E.D.N. et al. *Endocalyx melanoanthus* var. *melanoanthus* Ascomycota: new to Brazil and three new hosts. *Mycotaxon*. 2011. V. 1171. P. 109–113.
<https://doi.org/10.5248/117.109>

- Vu D., Groenewald M., de Vries M. et al.* Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Stud. Mycol.* 2019. V. 92 (1). P. 135–154.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.05.001>
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols*. 1990. P. 315–322.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Whitton S.R., Mckenzie E.H., Hyde K.D.* The current understanding of fungi associated with *Pandanaceae*. Fungi associated with *Pandanaceae*. 2012. *Fungal Diversity Research Series*. V. 21. P. 1–10.
https://doi.org/10.1007/978-94-007-4447-9_1
- Yaguchi T., Someya A., Udagawa S.* New and rare microfungi from the island of Hachijo-Jima. *Mycoscience*. 1996. V. 37. P. 157–162.
- Yilmaz N., Visagie C.M., Houbraken J. et al.* Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Stud. Mycol.* 2014. V. 78. P. 175–341.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.08.001>
- Zaid A., De Wet P., Djerbi M. et al.* Diseases and pests of date palm. Chapter XII: Date palm cultivation. Food and Agriculture Organization Plant Production and Protection. 2002. V. 156. P. 227–281.
- Zak J.C., Willig M.R.* Analysis and interpretation of fungal biodiversity patterns. In: *Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, 2004. P. 59–76.
- Александрова А.В., Сидорова И.И., Тиунов А.В.* (Aleksandrova et al.) Микроскопические грибы почв и листового опада национального парка Кат Тиен (южный Вьетнам) // *Микология и фитопатология*. 2011. Т. 45. № 1. С. 12–25.
- Александрова А.В., Алдобаева И.И.* (Aleksandrova, Aldobaeva) Почвообитающие микроскопические грибы светлого диптерокарпового леса национальный парк Йок Дон, Вьетнам // *Микология и фитопатология*. 2018. Т. 52. № 1. С. 22–29.
- Джонгман Р.Г.Г., ТерБраак С.Д.Ф. и др.* (Dzhongman et al.) Анализ данных в экологии сообществ и ландшафтов. М.: Издательство РАСХН, 1999. 306 с.
- Калашишникова К.А., Александрова А.В.* (Kalashnikova, Aleksandrova) Почвообитающие микроскопические грибы Национального парка “Би Дуп-Нуй Ба” Южный Вьетнам // *Микология и фитопатология*. 2014. Т. 48. вып.6. С. 355–364.
- Калашишникова К.А., Александрова А.В.* (Kalashnikova, Aleksandrova) Почвообитающие микроскопические грибы предгорного тропического леса (лесхоз Лок Бак, Южный Вьетнам) // *Микология и фитопатология*. 2015. Т. 49. № 2. С. 91–101.
- Калашишникова К.А., Коновалова О.П., Александрова А.В.* (Kalashnikova et al.) Почвообитающие микроскопические грибы муссонного диптерокарпового леса Заповедник Донг Най, Южный Вьетнам // *Микология и фитопатология*. 2016. Т. 50. № 2. С. 97–107.
- Кузнецов А.Н.* (Kuznetsov) Структура и динамика муссонных тропических лесов Вьетнама. Дисс. ... докт. биол. наук. Москва, 2016. 554 с.
- Леонтьев Д.В.* (Leontyev) Флористический анализ в микологии: учебник для студентов высших учебных заведений. Харьков, 2008. 110 с.
- Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Быстрова Е.В. и др.* (Likhovidov et al.) Антибактериальная активность почвенных грибов Южного Вьетнама в отношении возбудителя сибирской язвы // *Современная микология в России*. 2017а. Т. 7. С. 412–414.
- Лиховидов В.Е., Александрова А.В., Быстрова Е.В. и др.* (Likhovidov et al.) Антимикробная активность штаммов микромицетов в отношении госпитальных инфекций // *Современная микология в России*. 2017б. Т. 7. С. 242–245.
- Мегарран Э.* (Megarran) Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 181 с.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии (Methods)* / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Издательство МГУ, 1991. 304 с.
- Мирчинк Т.Г.* (Mirchink) Почвенная микология. М.: Изд-во МГУ, 1988. 220 с.
- Мирчинк Т.Г., Озерская С.М., Марфенина О.Е.* (Mirchink et al.) Выявление комплексов микроскопических грибов по их структуре // *Научные доклады высшей школы. Биологические науки*. 1982. № 11. С. 61–66.

Soil-Inhabiting Microscopic Fungi of the Foothill Forests of Bu Gia Map National Park (Vietnam)

I. I. Antonova^{a,#}, A. V. Aleksandrova^{a,b,##}, E. A. Antonov^{a,b,###}, I. A. Volynkina^{a,c,####},
and D. A. Lukyanov^{a,d,####}

^a Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^b Joint Vietnam-Russian Tropical Research and Technological Centre, Hanoi, Vietnam

^c Kurchatov Institute National Research Center, Moscow, Russia

^d Skolkovo Institute of Science and Technology, Russia

[#]e-mail: antirina22@yandex.ru

^{##}e-mail: alina-alex2011@yandex.ru

^{###}e-mail: antonovea@my.msu.ru

^{####}e-mail: info@mail.bio.msu.ru

The information about species composition and conformation characteristics of microfungi's complexes in the soil and leaf litter of specially protected natural areas of Vietnam. The mycological examinations of the Bu Zia Map National Park were carried out for the first time. List of species that was found by dilution plate method from 60 samples includes 88 species of microscopic fungi belonging to 42 genera and 15 types of sterile forms. 13 species of them were not observed previously for Vietnam. *Mucoromycota* was represented by only two species that related to the order *Mucorales*. *Basidiomycota* was represented by only one species. The most of identified fungi belongs to *Ascomycota*, dominant part of them is anamorphic. The leading orders are *Eurotiales* (42 species) and *Hypocreales* (17 species). Among the anamorphic forms there is a lot of different species *Aspergillus* and *Penicillium*. In soil from dipterocarp forest were identified 36 species microscopic fungi from 19 genera and eight sterile forms were isolated. There are three species were included in the group of dominants: *Aspergillus tubingensis*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma harzianum*. On a forest with *Lagerstroemia* sp. (*Lythraceae*) was found 47 species from 24 genera and 4 sterile forms were isolated. In the palm tropical forest area with *Arenga westerhoutii* (*Arecaceae*) 44 species of micromycetes from 27 genera and 5 sterile forms were isolated. The number of typical (dominant and frequent) species is very large, especially for the complex of micromycetes of the soil. *Purpureocillium lilacinum* and *Trichoderma harzianum* were also present. Rare tropical fungi have been found, such as *Heterocephalum taiense*, *Chaetomella circinoseta* and *C. raphigera* — soil fungi that are usually isolated from tropical soils and plants. *Endocalyx melanoxanthus* that has a tropical distribution and is associated with palm trees was found in Vietnam for the first time. The micromycete *Thielaviopsis radiculicola* which is a rather serious pathogen of palm was found in the soil in a forest area with a predominance of *Lagerstroemia* sp. Complexes of micromycetes of the studied forest areas are divided into groups according to the types of habitats studied and by the types of different substrates. The complexes of micromycetes that were found in the soil and on the litter of the *Lagerstroemia* forest are very different. The degree of study of the species composition for all habitats is not very high: from 56 to 78%. Further studies of this group are promising and may lead to the identification of new species.

Keywords: biological diversity, micromycetes, mycobiota, soil microfungi, tropical forest

УДК 574.472

МИКОБИОТА КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ *GOODYERA REPENS* (ORCHIDACEAE) В ПОПУЛЯЦИЯХ ИЗ ТРЕХ РЕГИОНОВ РОССИИ

© 2024 г. Н. М. Бибиков^{1,*}, Е. Ю. Воронина^{1,**}, А. В. Кураков^{1,***}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119234 Москва, Россия

*e-mail: bibik0808@mail.ru

**e-mail: mvsadnik@list.ru

***e-mail: kurakov57@mail.ru

Поступила в редакцию 28.10.2023 г.

После доработки 15.06.2023 г.

Принята к публикации 28.12.2023 г.

Goodyera repens — представитель семейства орхидных, широко распространенный и массовый в хвойных лесах северного полушария. Как и прочие орхидные, в природных условиях существует в облигатном микоризном симбиозе, но, несмотря на длительную историю изучения, для популяций, произрастающих на территории России, до настоящего времени не были получены данные о микобиоте, ассоциированной с корневой системой этого вида. В связи с этим стоит задача оценить все разнообразие грибов-ассоциантов, включая некультивируемые виды, а также получить количественные характеристики и оценить региональную специфичность грибных сообществ. В данной работе с применением высокопроизводительного секвенирования впервые качественно и количественно проанализирована микобиота корневой системы *G. repens*, произрастающей на территории Ленинградской и Московской областей и республики Карачаево-Черкесия. В общей сложности выявлено 438 операционально-таксономических единиц, в основном относящихся к отд. *Basidiomycota* с количественным преобладанием последовательностей родов *Russula*, *Ceratobasidium*, *Piloderma*, *Mycena*, *Tomentella*. Установлены значимые различия между грибными сообществами почвы и корневой системы *G. repens* во всех изученных регионах. Показана региональная специфика таксономического состава микобиоты: значимое отличие спектра таксонов в образцах из Карачаево-Черкесии от такового для Ленинградской и Московской областей и отсутствие заметного различия между двумя последними. В отношении распределения экологических групп грибов существенные различия между регионами не выявлены.

Ключевые слова: метагеномный анализ, микробиологическое профилирование, орхидная микориза, FUNGuild, *Goodyera repens*, ITS2

DOI: 10.31857/S0026364824030025, **EDN:** vjaebw

ВВЕДЕНИЕ

Будучи одним из крупнейших семейств сосудистых растений и включая представителей с различной экологией, *Orchidaceae* единообразны в необходимости установления микоризного симбиоза (орхидная микориза, ОМ) на самых ранних стадиях развития. Длительное время они полностью зависимы от питания (в том числе органического), поставляемого микобионтом, а некоторые виды сохраняют частичную или полную зависимость от углерода, поставляемого посредством микоризы, на протяжении всего жизненного цикла (Cameron et al., 2006; Smith, Read, 2012).

Одним из насущных вопросов в исследовании экологии и эволюции ОМ является специфичность симбионтов. Относительно малое время коэволюции обуславливает отсутствие филогенетической

обособленности микобионтов, а специфический спектр экспрессируемых генов и секретируемых ферментов соответствует переходным стадиям между сапротрофной и симбиотрофной экологическими стратегиями (Martin et al., 2016; Martino et al., 2018). Чаще всего микобионтами ОМ являются представители семейств *Ceratobasidiaceae* и *Tulasnellaceae* порядка *Cantharellales* (Fuller, 1909; Oberwinkler et al., 2017). Многие виды орхидных также способны формировать микоризу с микобионтами, обладающими широким спектром симбиотических активностей, такими как представители порядков *Sebacinales*, *Russulales*, *Agaricales* (Girlanda et al., 2006; Weiß et al., 2016; Li et al., 2022) и *Pezizales* (Suetsugu et al., 2017). Реже в корнях орхидных в качестве микобионтов выявляют представителей других экологических и таксономических групп (Wang et al., 2022).

Goodyera repens (L.) R. Br. in W.T. Aiton относится к трибе *Cranichidae* и является единственным видом этой трибы, произрастающим на территории европейской части России (Averyanov, 2000; Maevskiy, 2014). *G. repens* – клональный сциофитный вид, произрастающий в хвойных лесах Северного полушария. Наиболее распространенными микобионтами *G. repens* считаются представители семейства *Ceratobasidiaceae* (*Cantharellales*, *Agaricomycetes*, *Basidiomycota*) (Costantin, Dufour, 1920; Cameron et al., 2006). На примере нескольких видов рода *Goodyera* показано, что на уровне популяции они способны формировать ОМ с несколькими представителями *Ceratobasidiaceae* (Shefferson et al., 2010).

В корнях *G. repens* выявляются и микобионты эктомикоризы (ЭкМ) из порядков *Russulales* и *Thelephorales*, что предполагает способность этого вида к образованию микоризных сетей с древесными породами (Voronina et al., 2018).

Микориза *G. repens* является объектом исследований на протяжении 80 лет (Downie, 1943). Тем не менее, данные по структуре ассоциированного грибного сообщества и разнообразию микобионтов на данный момент неполные. В работах, направленных на исследование биоразнообразия микобионтов и эндофитов *G. repens* методами секвенирования (Shefferson et al., 2010; Voronina et al., 2018), либо ограничена выборка популяций, либо отсутствуют количественные данные по составу корневой микобиоты. Исследование таксономического состава грибного сообщества корней *G. repens* с использованием методов высокопроизводительного секвенирования существенно расширит современные представления об экологии ОМ, в частности вида-специалиста *G. repens*.

Целью данной работы является анализ таксономического состава и экологических групп грибов в корнях *G. repens* и выявление таксонов, обуславливающих специфичность корневой микобиоты и региональные различия в структуре грибного сообщества.

Таблица 1. Характеристики точек сбора образцов

Регион	Точка	Координаты (°с.ш., °в.д.)	Примечания
Ленинградская обл.	Л1	60.800425, 28.941970	Среди мха, под <i>Picea abies</i>
	Л2	60.801061, 28.950757	Под мертвой <i>Pinus</i> sp.
Московская обл.	М1	55.691680, 36.715776	Под <i>Pinus</i> sp.
	М2	55.691485, 36.714948	
	М3	55.694775, 36.739656	
Карачаево-Черкесия	К1	43.441397, 41.711269	На разложившейся древесине <i>Pinus</i> sp.
	К2	43.447487, 41.694842	На вывороте <i>Pinus</i> sp.
	К3	43.439822, 41.710351	Под <i>Pinus</i> sp.
	К4	43.438488, 41.714561	На валуне
	К5	43.260450, 41.427480	Под <i>Abies nordmanniana</i>
	К6	43.438966, 41.718041	Под <i>Picea abies</i>

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала. Образцы корней *G. repens* и прилегающей к ним почвы были собраны в августе 2022 г. в хвойных лесах на территории трех регионов России: Ленинградской обл. (две точки, подзолистая почва, сосняк с елью, Выборгский р-н, окрестности оз. Большое Лесное), Московской области (три точки, дерново-подзолистая почва, сосняк с елью, Звенигородская биостанция МГУ) и республики Карачаево-Черкесия (шесть точек, бурая горно-лесная почва, пихтарник с сосной, Тебердинский заповедник). В общей сложности было изучено 11 точек, с каждой из которых было отобрано по одному образцу корневой системы *G. repens* и по одному образцу прилегающей почвы. Описание точек сбора представлено в табл. 1.

Микробиологическое профилирование. Корни *G. repens* были очищены от почвы и стерилизованы путем последовательного погружения в 70%-й этанол (1 мин), моющее средство Fairy (30 сек), 0.1%-й р-р амоксициллина (1 мин) и стерильную дистиллированную воду. Образцы почвы и корней были измельчены в ступке и хранились в абсолютном этаноле до проведения анализа.

Выделение ДНК и метагеномный анализ по участку ITS2 проведены в компании БиоСпарк (Троицк, Московская обл.) в соответствии с методикой фирмы. Геномная ДНК выделена из образцов с использованием набора FastDNA SPIN Kit for soil (MP). Для секвенирования использованы праймеры NR_5.8SR (прямой) и NR ITS4R (обратный):

праймер	последовательность
NR_5.8SR	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGATCTCGATGAAGAACGCAGCG
NR ITS4R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGCATCCTCCGCTTATTGATATGC

Амплификация проведена в амплификаторе в реальном времени CFX96 Touch (Bio-Rad).

Подготовленные библиотеки проанализированы методом высокопроизводительного секвенирования на секвенаторе нового поколения Illumina MiSeq (Illumina). Полученные прочтения обработаны с использованием алгоритма QIIME 1.9.1.

Обработка данных. Для подтверждения таксономического статуса, присвоенного алгоритмом QIIME, последовательности были дополнительно идентифицированы с использованием баз данных GenBank и UNITE. Принадлежность последовательности к референтному виду предполагалась исходя из сходства не менее 97%. Актуальные названия таксонов приведены в соответствии с базой данных MycoBank (MycoBank, 2023).

Экологическая принадлежность таксономических единиц определена с помощью базы данных FUNGuild (Nguyen et al., 2016) в программе Anaconda. Статистическая обработка и визуализация многомерного шкалирования проведены в программе RStudio, визуализация остальных данных проведена в программе MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Параметры биоразнообразия

В общей сложности методом микробиологического профилирования по участку ITS2 в исследованных образцах выявлено 21 460 последовательностей, сгруппированных в 438 операционально-таксономических единиц (ОТЕ), относящихся к 262 родам, 168 семействам, 75 порядкам и 26 классам из 6 отделов грибов.

Суммарно во всех образцах подавляющая доля ОТЕ (98.3%) представлена отделами *Ascomycota* (28.0%) и *Basidiomycota* (70.3%). Из аскомицетов доминируют классы *Leotiomycetes* (*Helotiales*: *Hyaloscyphaceae*), *Dothideomycetes* (*Mytilinidiales*: *Gloniaceae*), *Eurotiomycetes* (*Eurotiales* и *Chaetothyriales*: *Herpotrichiellaceae*) и *Sordariomycetes*. Из базидиомицетов 97.2% составляет класс *Agaricomycetes* с доминирующими порядками *Cantharellales* (*Ceratobasidiaceae*, *Oliveoniaceae*), *Agaricales* (*Tricholomataceae*, *Hygrophoraceae*), *Russulales* (*Russulaceae*), *Atheliales* (*Atheliaceae*) и *Thelephorales* (*Thelephoraceae*) (рис. 1).

Наибольшим числом ОТЕ были представлены роды *Russula* (3235), *Ceratobasidium* (2620), *Piloderma* (1564), *Mycena* (1344), *Tomentella* (970), *Hyaloscypha* (673), *Tylospora* (637), *Cenococcum* (599), *Oliveonia* (513) и *Hygrophorus* (502). На видовом уровне преобладали *Ceratobasidium* sp. 7 (1480), *Piloderma sphaerosporum* Jülich (1021), *Russula recondita* Melera et Ostellari (939),



Рис. 1. Суммарный таксономический состав микобиоты всех образцов до ранга семейств (приведены таксоны, представленные более 500 ОТЕ, 2%):

1 — *Sordariomycetes*, 2 — *Thelephorales*, 3 — *Mytilinidiales*, 4 — *Chaetothyriales*, 5 — *Eurotiales*, 6 — *Hyaloscyphaceae*, 7 — *Gloniaceae*, 8 — *Herpotrichiellaceae*, 9 — *Oliveoniaceae*, 10 — *Hygrophoraceae*.

R. laricina Velen. (864), *Ceratobasidium* sp. 5 (743), *Tomentella bryophila* (Pers.) M.J. Larsen (615), *Cenococcum geophilum* Fr. (599) и *Oliveonia pauxilla* (H.S. Jacks.) Donk (513).

Выявленные ОТЕ объединены в экологические группы с использованием базы данных FUNGuild. С помощью FUNGuild определены экологические группы 350 из 438 ОТЕ (80%). В тексте приведена следующая версия перевода терминов:

экологическая группа по FUNGuild	перевод
endophyte	эндофит
endomycorrhizal	эндомикориза
ectomycorrhizal	эктомикориза
ericoid mycorrhizal	эрикоидная микориза
animal pathogen	патоген животных
plant pathogen	фитопатоген
leaf saprotroph	сапротроф на листе
litter saprotroph	подстилочный сапротроф
wood saprotroph	ксилосапротроф
undefined saprotroph	сапротроф на неидентифицированном субстрате (НС)

Для установления экологических групп была использована база данных FungalTraits (Pölme et al., 2020), однако полученные данные практически не отличались, в связи с чем не приведены в тексте. Базы

данных FUNGuild и FungalTraits предписали экологическую роль примерно с равной эффективностью (80 и 82% ОТЕ соответственно). Основное различие в их применении обусловлено разной интерпретацией экологической роли представителей рода *Ceratobasidium*, составляющих существенную долю в изучаемых образцах. По данным FUNGuild представители рода *Ceratobasidium* относятся к экологической группе “Эндомикориза/Фитопатоген/Сапротроф на неидентифицированном субстрате (НС)”. Учитывая характер исследуемых образцов и преобладание ОТЕ рода *Ceratobasidium*, в тексте они рассмотрены как микобиоты эндомикоризы, а именно ОМ. В остальном обе базы данных выявили в качестве доминирующих групп микобиоты ЭкМ, а также почвенных, подстилочных сапротрофов и ксилосапротрофов (рис. 2).

Различия в таксономическом составе и распределении экологических групп грибных сообществ показаны при помощи анализа PERMANOVA. Выявлено существенное различие в таксономическом составе грибных сообществ корней *G. repens* и прилегающей почвы ($p = 0.010$). При сравнении образцов из разных регионов выявлено существенное отличие микобиоты корней *G. repens* из Карачаево-Черкесии от Ленинградской ($p = 0.030$) и Московской ($p = 0.010$) областей. Достоверное различие между образцами корней *G. repens* в Ленинградской и Московской областях выявлено не было ($p = 0.130$).

При сравнении образцов по распределению экологических групп выявлено существенное отличие образцов корней *G. repens* от почвы ($p = 0.001$). Вместе с тем различий в представленности экологических групп

в сообществах грибов, ассоциированных с *G. repens* в изученных регионах, выявлено не было ($p = 0.363$). Отличия визуализированы с использованием метода неметрического многомерного шкалирования, оси графика отражают условные координаты точек в двухмерном пространстве (NMDS1, NMDS2) (рис. 3).

Существенное различие в таксономическом составе микобиоты как по типу материала, так и по региону продемонстрировано на рис. 3, А. Отсутствие отличий в таксономическом составе корневой микобиоты *G. repens* Московской и Ленинградской областей, возможно, обусловлено тем, что в двух точках сбора из Ленинградской обл. *G. repens* формирует микоризу с разными представителями семейства *Ceratobasidiaceae*. Учитывая высокую долю представителей этого семейства в образцах, различие между образцами из Ленинградской обл. оказывается существенно различий между регионами.

Грибное сообщество почвы б.ч. единообразно и не имеет региональной специфичности, тогда как соотношение экологических групп грибов в корневой системе *G. repens* неоднородно и также не зависит от региона произрастания (рис. 3, Б).

Таким образом, таксономический состав и распределение экологических групп микобиоты корней *G. repens* в каждом регионе отличаются от состава почвенной микобиоты. Географический фактор может обуславливать различие лишь в таксономическом составе как корневой, так и почвенной микобиоты, в то время как распределение экологических групп остается постоянным вне зависимости от региона.

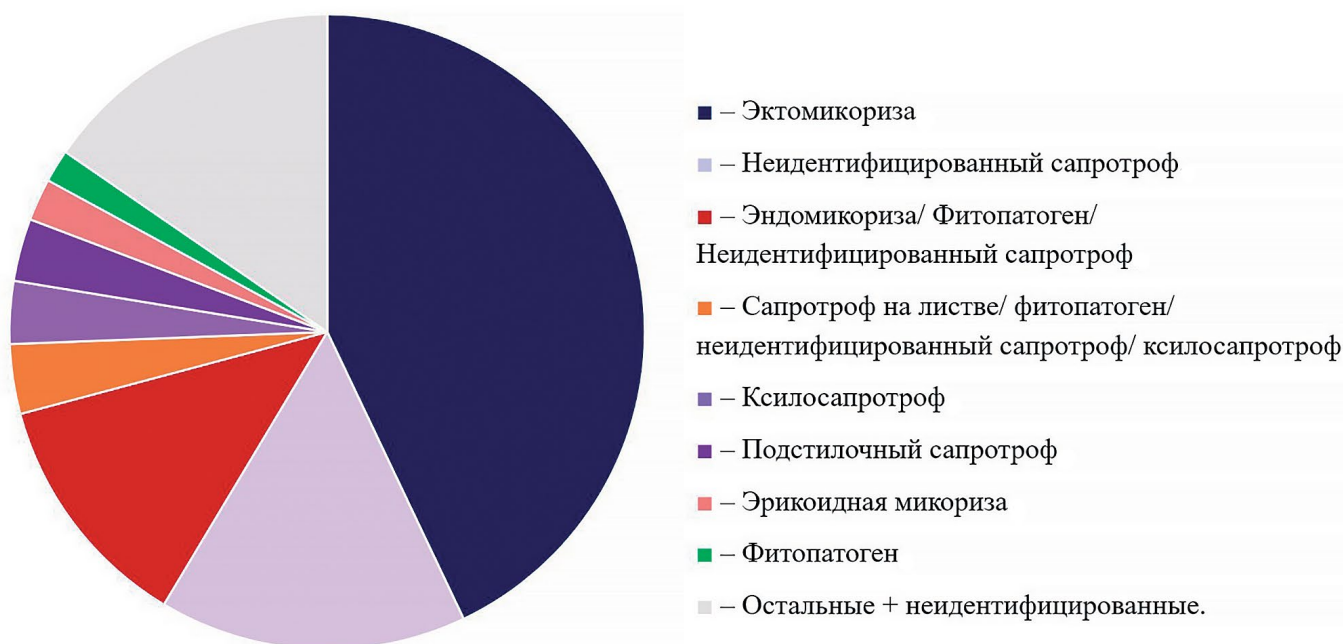


Рис. 2. Распределение экологических групп грибов для всех образцов по данным FUNGuild.

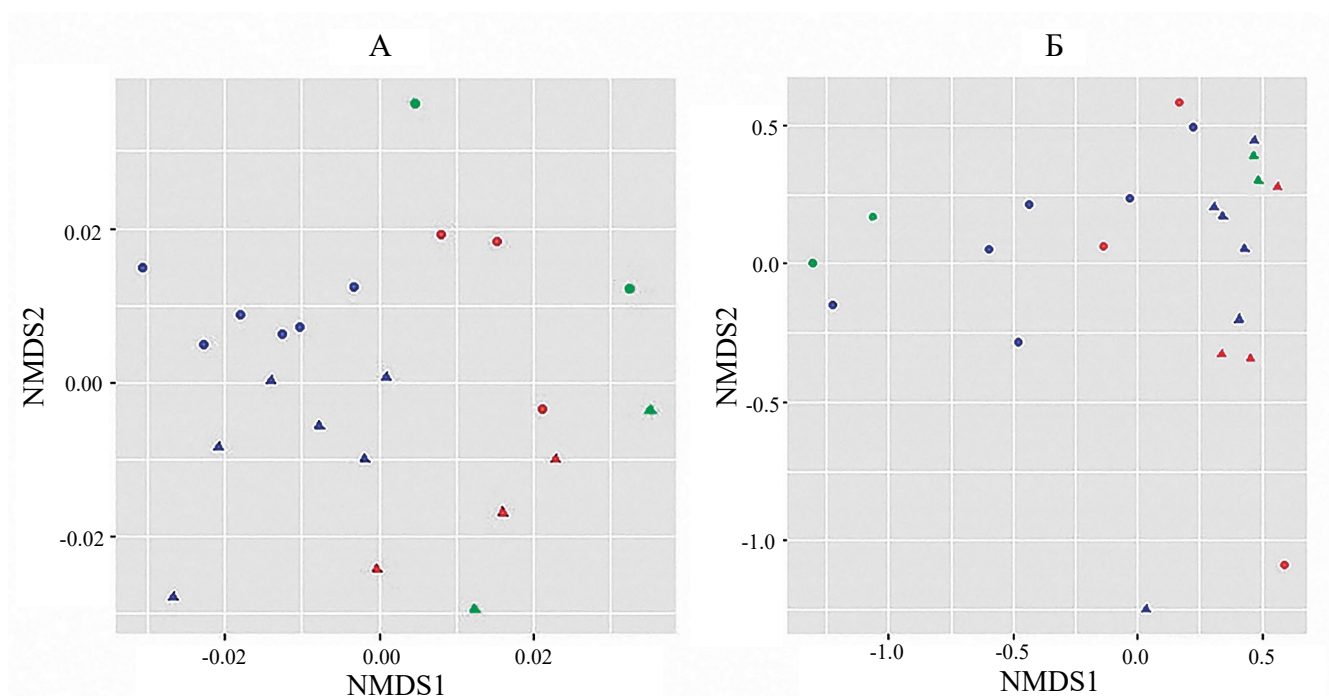


Рис. 3. Ординация образцов с использованием дистанции Брея – Кертиса: А – по таксономическому составу (значение стресса 0.20); Б – по распределению экологических групп (значение стресса 0.08). Зеленый цвет – Ленинградская обл., красный – Московская обл., синий – Карачаево-Черкесия. Кругочком обозначены корни *G. repens*, треугольником – почва.

Различия корневой и почвенной микобиоты

С целью выявления таксонов и экологических групп, обуславливающих отличия корневой микобиоты от почвенной, был проанализирован таксономический состав и распределение экологических групп грибов в образцах почвы и корней *G. repens* (рис. 4, 5).

Различие в таксономическом составе корневой и почвенной микобиоты выявляются на уровне порядков. В корнях *G. repens* большей долей представлен порядок *Cantharellales*, существенную часть которого (99.5%) составляет семейство *Ceratobasidiaceae*, и порядок *Sebacinales* – группы, включающие специфичных микобионтов ОМ (Weiß et al., 2016). Преобладание микобионтов ОМ в корнях *G. repens* обуславливает отличие в составе экологических групп корневой и почвенной микобиоты. В силу разнообразия экологических стратегий внутри семейства *Ceratobasidiaceae* (Pilshchikova, Gannibal, 2016), его представители классифицируются по базе данных FUNGuild в группу “Эндомикориза/Фитопатоген/НС”, являющуюся доминирующей в образцах корней *G. repens*. Представителям порядка *Sebacinales* не присвоена экологическая группа с помощью FUNGuild. В корнях *G. repens* присутствует также экологическая группа “фитопатоген”, представленная преимущественно (65.2%) ОТЕ *Rhizoctonia ochracea* (Masse) Oberw., R. Bauer, Garnica et R. Kirschner. Этот вид относится к семейству *Ceratobasidiaceae* и способен

формировать ОМ (Roberts, 1998). Несмотря на это, далее этот вид будет рассмотрен как фитопатоген в соответствии с данными FUNGuild для объяснения различий между образцами.

Таксономический состав почвенной микобиоты отличается большей долей представителей отдела *Ascomycota*: порядков *Helotiales*, *Mytilinidiales* и *Eurotiales*, а также порядка *Trechisporales*. Представители порядков *Helotiales* и *Trechisporales* (*Trechispora* spp.) классифицированы как сапротрофы на различных субстратах, что обуславливает большую долю этой экологической группы в почве. Среди порядка *Helotiales* доминируют сапротрофы *Hyaloscypha* spp. и микобионты эрикоидной микоризы *Oidiodendron* spp. Порядки *Mytilinidiales* и *Eurotiales* представлены соответственно ОТЕ *Cenococcum geophilum* (99.0% ОТЕ порядка) и *Elaphomyces* spp. (65.5% ОТЕ порядка), классифицированными как микобионты Эк М. Грибы этих таксонов на исследуемых территориях развиваются локально и составляют существенную долю в одном или двух образцах почвы. Тем не менее они вносят вклад в доминирующую долю микобионтов ЭкМ в почвенной микобиоте. Подавляющая доля микобионтов ЭкМ как в почвенном, так и в корневом сообществе представлена базидиомицетами порядков *Agaricales*, *Russulales*, *Atheliales* и *Thelephorales*.

Таким образом, отличие в составе микобиоты между объединенными образцами корневой системы *Goodyera*

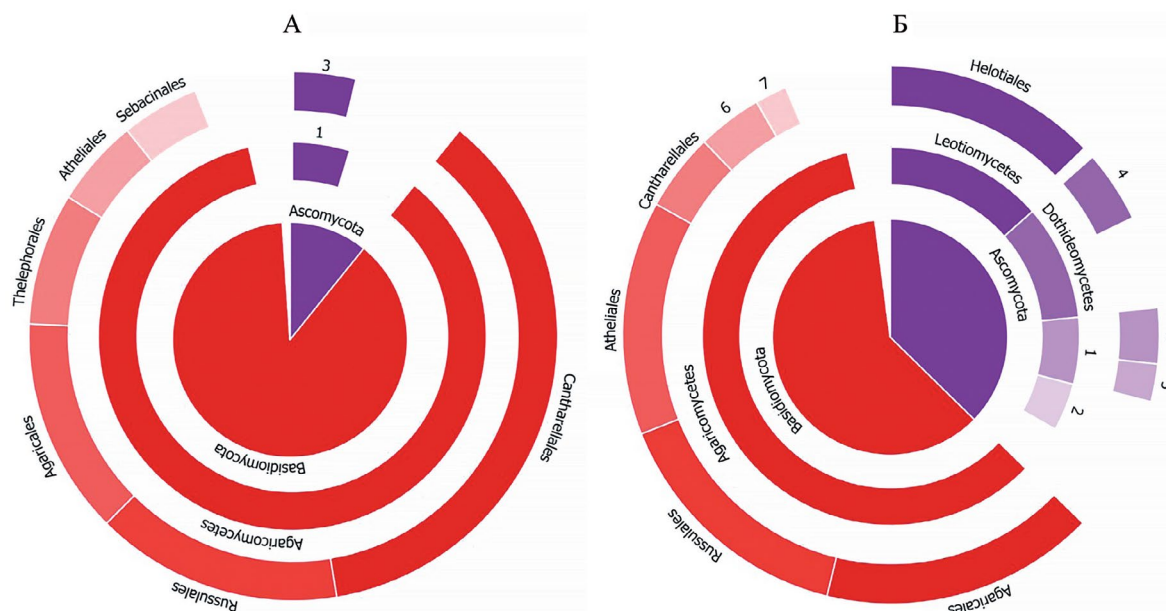


Рис. 4. Таксономический состав микобиоты корней *Goodyera repens* (А) и почвы (Б) до ранга порядков (приведены таксоны, представленные более 2% – 150 ОТЕ для корней и 250 для почвы): 1 – *Eurotiomycetes*, 2 – *Sordariomycetes*, 3 – *Chaetothyriales*, 4 – *Mytilinidiales*, 5 – *Eurotiales*, 6 – *Thelephorales*, 7 – *Trechisporales*.

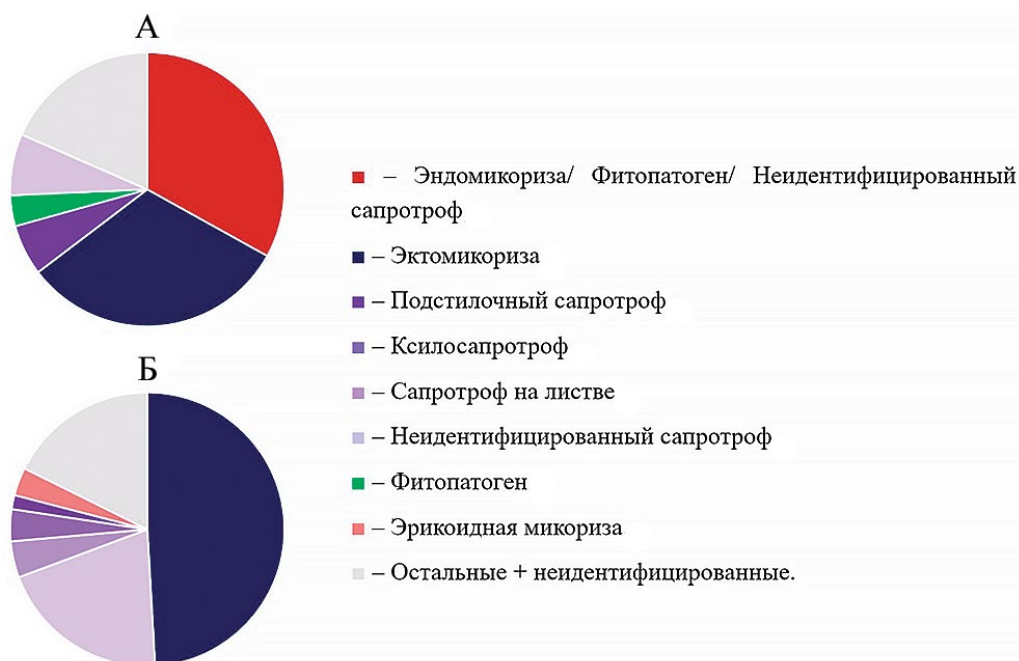


Рис. 5. Состав экологических групп грибов в корнях *Goodyera repens* (А) и в почве (Б) по данным FUNGuild.

repens и почвы прослеживается как в таксономическом составе, так и в распределении экологических групп и обусловлено в первую очередь грибами-микорризообразователями рода *Ceratobasidium* – микобионтами *G. repens*, отнесенными к экологической группе “Эндомикорриза/Фитопатоген/НС”. Различия микобиоты этих экотопов связаны также с некоторыми таксонами эктомикорризообразователей: *Cenococcum geophilum*, *Elaphomyces* spp., преобладающими в образцах почвы,

а также сапротрофами порядков *Helotiales* и *Trechisporales*, обильнее представленными в почве.

Региональная специфичность корневой микобиоты

Регион произрастания *Goodyera repens* определяет различия в таксономическом составе корневой микобиоты, но не в распределении экологических групп. В отличие от образцов почвы, единообразных

по экологическому распределению грибов, корневая микобиота разнородна, и различия между точками внутри одного региона могут быть существеннее различий между точками в разных регионах (рис. 3). В связи с этим таксономический состав рассмотрен для точек, объединенных по регионам, а распределение экологических групп обсуждено отдельно для каждой точки (рис. 6, 7).

Таксономический состав грибного сообщества в корнях *G. repens* из разных регионов схож на уровне отделов и классов, а существенные различия наблюдаются на уровне порядков класса *Agaricomycetes*. В образцах корневой системы *G. repens* из Ленинградской обл. доминирует единственный порядок этого класса — *Cantharellales* (семейство *Ceratobasidiaceae*) (рис. 6, А). Доля представителей этого порядка в образцах составляет 98.6% ОТЕ класса. В образцах из Московской обл. значительную долю также составляют порядки *Agaricales* (31.6%), *Atheliales* (15.8%) и *Trechisporales* (11.1%) (рис. 6, Б). В образцах корней *G. repens* из Карачаево-Черкесии, помимо вышеуказанных порядков, доминируют также порядки *Russulales* (25.2%) и *Sebacinales* (8.0%) (рис. 6, В).

Таким образом, наиболее яркие различия в таксономическом составе на уровне порядков в микобиоте корней *G. repens* обусловлены таксонами микобионтов Эк М. Отсутствие отличий в таксономическом составе корневой микобиоты *G. repens* из Московской и Ленинградской областей обусловлено существенным различием таксономического состава двух образцов Ленинградской области: в обоих образцах грибы семейства *Ceratobasidiaceae* составляют более 79% при отсутствии микобионтов ЭкМ, однако представлены разными ОТЕ рода *Ceratobasidium* (табл. 2).

Региональные различия в составе экологических групп корневой микобиоты *G. repens* обусловлены группами “Эндомикориза/Фитопатоген/НС” (семейство *Ceratobasidiaceae*), а также микобионтами ЭкМ и фитопатогенами. В корнях *G. repens* из Ленинградской обл. доля микобионтов ЭкМ ниже, чем в остальных регионах. Высокая доля фитопатогенов в корнях *G. repens* из Московской обл. обусловлена отнесением к этой группе ОТЕ *Rhizoctonia ochracea*. Однако было показано, что представители этого вида способны формировать ОМ наряду с *Ceratobasidium* (Roberts, 1998).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе данной работы, впервые количественно характеризуют структуру грибного сообщества, ассоциированного с корневой системой *Goodyera repens* на примере популяций из различных типов леса: сосняк с елью (Ленинградская и Московская области) и пихтарник с сосной (республика Карачаево-Черкесия). Показано, что представители *Ceratobasidiaceae*, являющиеся основными микобионтами видов *Goodyera* (Shefferson et al., 2010), составляют наибольшую долю в корневой микобиоте, причем ОМ способны формировать как *Ceratobasidium*, так и *Thanatephorus* (*Rhizoctonia ochracea*). Эти микобионты в наибольшей степени обуславливают различие таксономического и экологического состава корневой и почвенной микобиоты. Малая доля представителей семейства *Ceratobasidiaceae* в образцах почвы под куртинами *Goodyera repens* указывает на их тяготение к ассоциации с растениями и предпочтение симбиотического образа жизни сапротрофному. Грибы семейства *Ceratobasidiaceae* обуславливают региональную специфичность корневой микобиоты, будучи

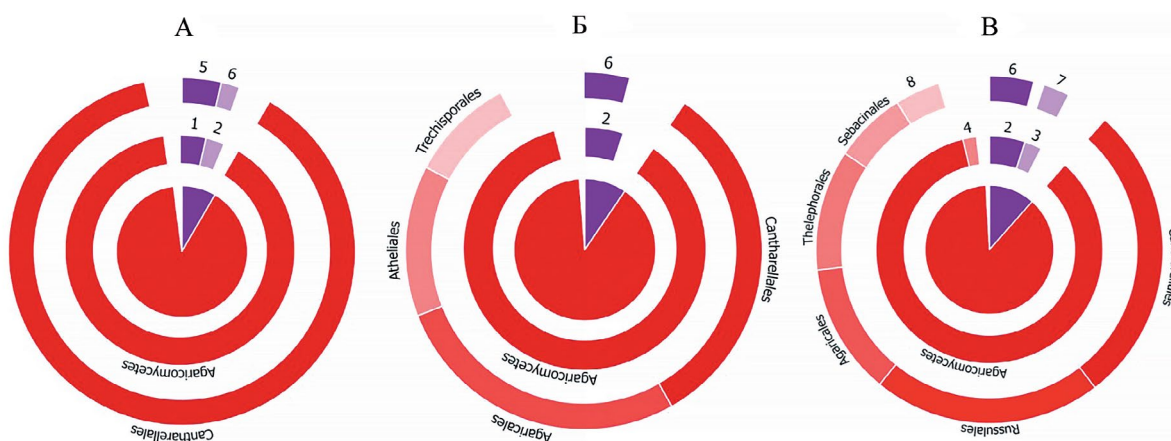


Рис. 6. Таксономический состав микобиоты корней *Goodyera repens* в Ленинградской обл. (А), Московской обл. (Б) и Карачаево-Черкесии (В) до ранга порядков (приведены таксоны, представленные более 2% от общего числа ОТЕ в образце): 1 — *Leotiomycetes*, 2 — *Eurotiomycetes*, 3 — *Pezizomycetes*, 4 — *Tremellomycetes*, 5 — *Helotiales*, 6 — *Chaetothyriales*, 7 — *Pezizales*, 8 — *Atheliales*.

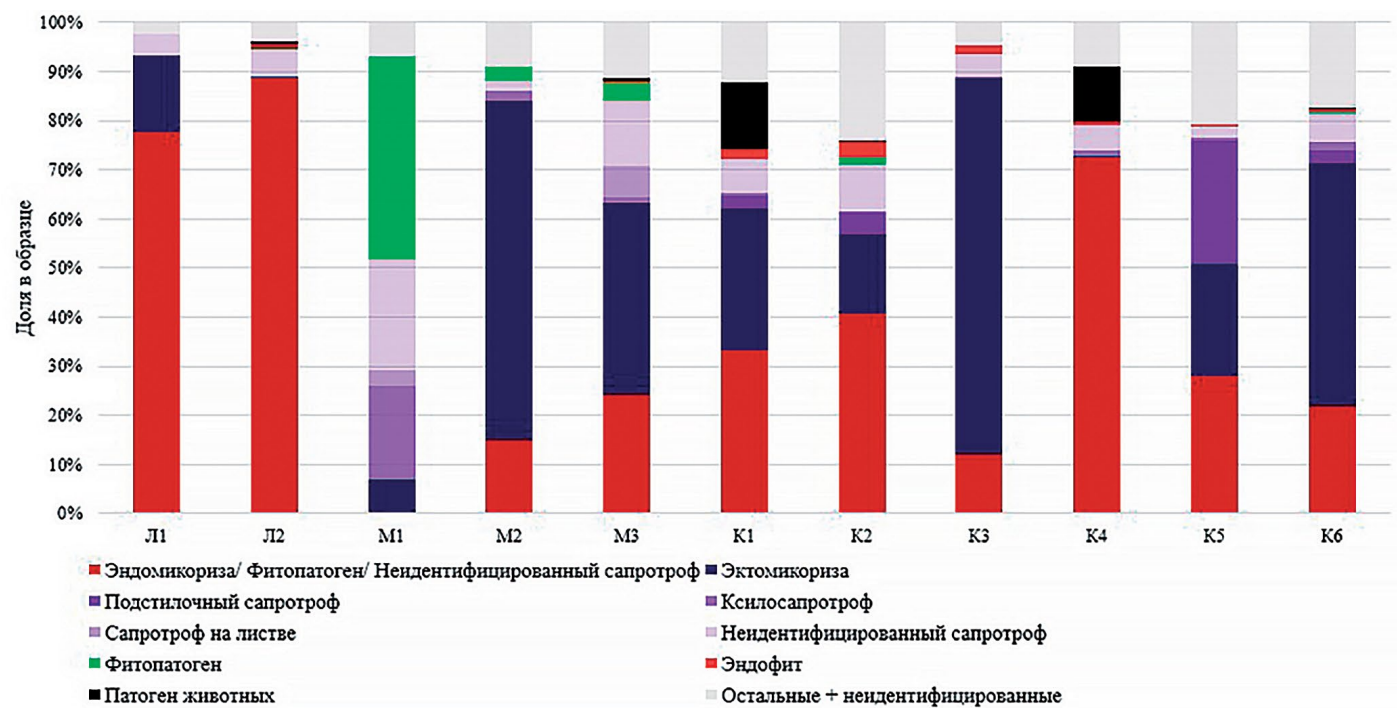


Рис. 7. Распределение экологических групп грибов в корнях *Goodyera repens* из разных регионов по данным FUNGuild: Л – Ленинградская обл.; М – Московская обл.; К – Карачаево-Черкесия. Описания точек сбора приведены в табл. 1.

Таблица 2. Таксоны, доминирующие в образцах корней *Goodyera repens* и обуславливающие различие между регионами

Таксон	Референс	Сходство	Регион	Экологическая группа (по FUNGuild)
<i>Cladophialophora</i> sp.	OW846714.1	99.7%	М	неидентифицированный сапротроф
<i>Ceratobasidium</i> sp. 3	MH248045.1	100%	Л, М	эндомикориза/ фитопатоген/ неидентифицированный сапротроф
<i>Ceratobasidium</i> sp. 5	OL437012.1	98.9%	Л2	
<i>Ceratobasidium</i> sp. 6	KP056302.1	99.5%	Л1	
<i>Ceratobasidium</i> sp. 7	MN006062.1	98.9%	К	
<i>Rhizoctonia ochracea</i> (Massee) Oberw., R. Bauer, Garnica et R. Kirschner	EU218892.1	97.4%	М	фитопатоген
<i>Russula laricina</i> Velen.	MF926568.1	99.7%	К	эктомикориза
<i>R. recondita</i> Melera et Ostellari	MT252520.1	97.0%	К	
<i>R. sanguinea</i> (Bull.) Fr.	KT934008.1	97.4%	К	
<i>Cortinarius casimiri</i> (Velen.) Huijsman	MG773833.1	99.7%	М	
<i>Mycena pura</i> (Pers.) P. Kumm.	MK309793.1	99.7%	К	подстильный сапротроф
<i>M. sanguinolenta</i> (Alb. et Schwein.) P. Kumm.	MH856662.1	99.7%	М	сапротроф на листе
<i>Xeromphalina setulipes</i> Esteve-Rav. et G. Moreno	NR_121458.1	99.4%	М	неидентифицированный сапротроф
<i>Athelopsis fusioidea</i> (Jülich) Tellería	KP814479.1	99.1%	М	
<i>Trechispora invisitata</i> (H.S. Jacks.) Liberta	KP814425.1	100%	М	ксилосапротроф
<i>Tylospora</i> sp.	MG597440.1	100%	М, К	эктомикориза
<i>Tylospora fibrillosa</i> (Burt) Donk	MH248063.1	100%	М	
<i>Tomentella bryophila</i> (Pers.) M.J. Larsen	AJ889981.1	100%	К	
<i>Sebacina incrustans</i> (Pers.) Tul. et C. Tul.	JQ665539.1	100%	К	
<i>Sebacina</i> sp.	MN265713.1	100%	К	НД

Примечание. НД – экологическая группа не идентифицирована.

представленными разными ОТЕ в зависимости от региона произрастания *G. repens* (табл. 2).

Помимо специфичных микобионтов, существенную долю в грибном сообществе корневой системы *G. repens* составляют микобионты ЭкМ. Грибы этой экологической группы ранее выявляли в корнях *G. repens* методами прямого секвенирования (Voronina et al., 2018), и количественные данные, полученные в ходе данной работы, подтверждают их важную роль в корнях орхидных. Наличие эктомикоризообразователей в корнях после тщательной поверхностной очистки и стерилизации свидетельствует о возможности их ассоциации с *G. repens* и формирования микоризных сетей с хвойными деревьями. Таксономическое разнообразие выявленных микобионтов ЭкМ выше по сравнению со специфичными микобионтами ОМ: выявлены представители порядков *Atheliales*, *Agaricales*, *Russulales*, *Thelephorales*, *Eurotiales* и *Mytiliniidiales*. Доля эктомикоризообразователей в корнях варьирует от полного отсутствия до доминирующей доли в образце (76.6%). Отсутствие микобионтов ЭкМ в точках Л2 и К4 объясняется недоступностью корней хвойных деревьев (табл. 1), дополнительно свидетельствуя о возможности участия *G. repens* в формировании микоризных сетей.

Региональные различия в составе корневой микобиоты также отчасти обусловлены микобионтами ЭкМ и прослеживаются на уровне порядков. В Ленинградской обл. микобионты ЭкМ практически отсутствуют, в Московской представлены порядками *Agaricales* и *Atheliales*, а в Карачаево-Черкесии — порядками *Russulales*, *Agaricales*, *Thelephorales* и *Atheliales*.

Несмотря на существенную долю микобионтов ЭкМ в корнях *G. repens*, в почвенной микобиоте они представлены соизмеримыми, либо большими долями, что может быть связано с образованием мицелиальных тяжей в почве.

Помимо микобионтов ОМ и ЭкМ, различие состава корневой и почвенной микобиоты обусловлено представителями порядка *Helotiales*, включающего сапротрофов и микобионтов эрикоидной микоризы, и порядка *Trechisporales*, включающего сапротрофов. Эти порядки преобладают в почвенной микобиоте.

Таким образом, методом микробного профилирования была показана региональная специфичность корневой микобиоты *G. repens* и выявлены таксоны грибов, тяготеющие к корневой системе и обуславливающие региональную специфичность микобиоты. Показано, что состав грибного сообщества корней *G. repens* и почвы различается как по таксономическому составу, так и по распределению экологических групп. Отсутствие значимого отличия между составом грибного сообщества сосняков Московской и Ленинградской областей и отличие их от состава

сообщества пихтарников Карачаево-Черкесии позволяет предположить, что тип леса является одним из факторов, обуславливающих различие в таксономическом составе ассоциированной микобиоты. В то же время экологическое распределение неоднородно в пределах региона.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования (грант № 075-15-2021-1396).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Averyanov L.V. Orchidaceae of Middle Russia. Turczaninowia. 2000. V. 3 (1). P. 30–53 (in Russ.).
- Cameron D.D., Leake J.R., Read D.J. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. New Phytol. 2006. V. 171 (2). P. 405–416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01767>
- Costantin J., Dufour L. Sur la biologie du *Goodyera repens*. Rev. Gen. Bot. 1920. V. 32. P. 529–533.
- Downie D.G. Source of the symbiont of *Goodyera repens*. Trans. R. Soc. Edinburgh. 1943. V. 33. P. 383–390. <https://doi.org/10.1080/13594864309441392>
- Fuller G.D. Symbiosis in orchids. Bot. Gaz. 1909. V. 48 (6). P. 474. <https://doi.org/10.1086/330075>
- GenBank. National Center for Biotechnology Information. 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>. Accessed 16.08.2023.
- Girlanda M., Selosse M.A., Cafasso D. et al. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal *Russulaceae*. Mol. Ecol. 2006. V. 15 (2). P. 491–504. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02770.x>
- Li Y.Y., Boeraeve M., Cho Y.H. et al. Mycorrhizal switching and the role of fungal abundance in seed germination in a fully mycoheterotrophic orchid, *Gastrodia confusoides*. Front. Plant Sci. 2022. V. 12. P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.775290>
- Maevskiy P.F. The flora of Middle European Russia. 11th edn. Tovarichestvo nauchnykh izdaniy KMK, Moscow, 2014 (in Russ.).
- Martin F., Kohler A., Murat C. et al. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses. Nat. Rev. Microbiol. 2016. V. 14 (12). P. 760–773. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.149>
- Martino E., Morin E., Grelet G.A. et al. Comparative genomics and transcriptomics depict ericoid mycorrhizal fungi as versatile saprotrophs and plant mutualists. New Phytol. 2018. V. 217 (3). P. 1213–1229. <https://doi.org/10.1111/nph.14974>
- Mycobank Database. <https://www.mycobank.org/>. Accessed 16.08.2023.
- Nguyen N.H., Song Z., Bates S.T. et al. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. Fungal Ecol. 2016. V. 20. P. 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006>

- Oberwinkler F., Cruz D., Suárez J.P. Biogeography and ecology of *Tulasnellaceae*. In: L. Tedersoo (ed.). Biogeography of mycorrhizal symbiosis. Berlin: Springer. 2017. P. 237–271.
- Pilshchikova N.S., Gannibal Ph.B. Modern systematics of the genus *Rhizoctonia* sensu lato. Mikologiya i fitopatologiya. 2016. V. 50 (2). P. 75–88 (in Russ.).
- Põlme S., Abarenkov K., Henrik Nilsson R. et al. FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. Fungal Divers. 2020. V. 105. P. 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>
- Roberts P. *Thanatephorus ochraceus*: a saprotrophic and orchid endomycorrhizal species. Sydowia. 1998. V. 50. P. 252–256.
- Shefferson R.P., Cowden C.C., McCormick M.K. et al. Evolution of host breadth in broad interactions: mycorrhizal specificity in East Asian and North American rattlesnake plantains (*Goodyera* spp.) and their fungal hosts. Mol. Ecol. 2010. V. 19. P. 3008–3017. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04693.x>
- Smith S., Read D. Mycorrhizal symbiosis. Tovarichestvo nauchnykh izdaniy KMK, Moscow, 2012 (in Russ.).
- Suetsugu K., Yamato M., Miura C. et al. Comparison of green and albino individuals of the partially mycoheterotrophic orchid *Epipactis helleborine* on molecular identities of mycorrhizal fungi, nutritional modes and gene expression in mycorrhizal roots. Mol. Ecol. 2017. V. 26 (6). P. 1652–1669. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- UNITE. 2022. <https://unite.ut.ee/index.php>. Accessed 16.08.2023.
- Voronina E.Y., Malysheva E.F., Malysheva V.F. et al. A mixotrophy is in question: new data on fungal community associated with photosynthetic terrestrial orchid *Goodyera repens*. Bot. Pac. 2018. V. 7. P. 51–61. <https://doi.org/10.17581/bp.2018.07106>
- Wang D., Lerou J., Nuytinck J. et al. Root-associated fungi in *Orchidaceae*: Diversity, phylogeny, ecology, and outstanding questions. BioRxiv. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.12.16.519622>
- Weiß M., Waller F., Zuccaro A. et al. *Sebacinales* – one thousand and one interactions with land plants. New Phytol. 2016. V. 211. P. 20–40. <https://doi.org/10.1111/nph.13977>
- Аверьянов Л.В. (Averyanov) Орхидные (Orchidaceae) Средней России // Turczaninowia. 2000. Т. 3 (1). С. 30–53.
- Маевский П.Ф. (Maevskiy) Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014.
- Пильщикова Н.С., Ганнибал Ф.Б. (Pilshchikova, Gannibal) Современная систематика грибов рода *Rhizoctonia* sensu lato // Микология и фитопатология. 2016. Т. 50 (2). С. 75–88.
- Смит С., Рид Д. (Smith, Read) Микоризный симбиоз. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012.

Root-Associated Mycobiota of *Goodyera repens* (Orchidaceae) Populations from Three Russian Regions

N. M. Bibikov^{a, #}, E. Yu. Voronina^{a, ##}, and A. V. Kurakov^{a, ###}

^a Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: bibik0808@mail.ru

**e-mail: mvsadnik@list.ru

***e-mail: kurakov57@mail.ru

Goodyera repens is an orchid, widespread and abundant in the coniferous forests of the northern hemisphere. Along with other members of *Orchidaceae*, in natural conditions it exists in obligate mycorrhizal symbiosis. Despite a long history of study, no data on the mycobiota associated with the root system of this species have been obtained for populations growing in Russia. It is therefore necessary to assess the entire diversity of fungal associates, including non-cultivated species, as well as to obtain quantitative characteristics and evaluate the geographic specificity of fungal communities. In this work, the mycobiota of the root system of *G. repens* growing in the Leningrad and Moscow Regions and Karachay-Cherkess Republic was analysed qualitatively and quantitatively for the first time using high-throughput sequencing. A total of 438 operational taxonomic units were identified, with the majority belonging to the subdivision Basidiomycota. The quantitative predominance of sequences of the genera *Russula*, *Ceratobasidium*, *Piloderma*, *Mycena*, and *Tomentella* was observed. Significant differences between fungal communities of soil and the root system of *G. repens* were established in all studied regions. The regional specificity of the taxonomic composition of the mycobiota was demonstrated. The taxa spectrum of the samples from Karachay-Cherkessia differed significantly from that of the Leningrad and Moscow Regions, while no notable difference was observed between the latter two. With regard to the distribution of ecological groups of fungi, no significant differences were found between the regions.

Keywords: FUNGuild, *Goodyera repens*, ITS2, metagenome, microbiology profiling, orchid mycorrhiza

SEASONAL DYNAMICS OF SPOROPHORE FORMATION OF MYXOMYCETES IN POLISTOVO-LOVATSKAYA BOG SYSTEM (PSKOV AND NOVGOROD REGIONS, RUSSIA)

© 2024 V. I. Gmoshinskiy^{1,*}, N. I. Borzov^{1,**}, F. M. Bortnikov^{2,***}, and A. V. Matveev^{1,****}

¹ Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia

² Komarov Botanical Institute, 197376 St. Petersburg, Russia

*e-mail: rubisco@list.ru

**e-mail: borzovnikita@bk.ru

***e-mail: f.m.bortnikov@gmail.com

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

Received 25 June, 2023; revised 21 October, 2023; accepted 28 December, 2023

We investigated the seasonality of myxomycete fruiting body formation under natural conditions in the field during four years in the Polistovo-Lovatskaya bog system (Northwestern Russia). It was shown that the species diversity of myxomycetes peaks in mid-summer and gradually decreases afterwards. The species composition of myxomycetes varies depending on the season. There were five phenological groups distinguished: summer, early autumn, late autumn, spring and species without pronounced periods of mass formation of fruiting bodies. It is shown the list of identifiable taxa may significantly vary in different years and there are widespread species that do not form sporophores every year. Thus, when conducting field studies, it is necessary to make observations over several years and throughout the entire snowless period.

Keywords: biodiversity, methodology of field work, phenology, population dynamics, slime molds

DOI: 10.31857/S0026364824030034, **EDN:** viytttd

INTRODUCTION

The myxomycetes are a relatively small group of soil protozoans currently attributed to the *Amoebozoa* clade (Adl et al., 2019). Their life cycle includes motile trophic, dormant and dispersal stages. Myxomycetes are a traditional object of study for mycologists, as they form sporocarps that resemble the fruiting bodies of some fungi and are well preserved in herbaria (Ronikier, Halamski, 2018). They inhabit almost all terrestrial ecosystems and are extremely abundant (Bailly et al., 2007; Urich et al., 2008) in soil and on many substrates of plant origin such as forest floor and tree bark. They influence the abundance of bacteria, yeasts, fungal spores and other microscopic organisms (Stephenson et al., 2011).

As a rule, it is challenging to assess the abundance of myxomycetes in a particular area. This is due to the fact that identification of myxomycete species by morphological characters is only possible at the dispersal stage represented by sporophores of diverse structure. The trophic stages, apparently more numerous, are usually located within the substrate (Shchepin et al., 2019). In most cases, they escape the eyes of researchers and are not suitable for identification of morphospecies

(Novozhilov et al., 2016). Myxomycetes can form sporophores during the entire snowless period that lasts from the end of March to the end of November in Central Russia. It is thought that the main factors influencing the sporophore formation in myxomycetes are temperature and humidity (Martin, Alexopoulos, 1969). As a result, many species exhibit pronounced peaks of sporophore formation (Schnittler, Novozhilov, 1996), whereas some species may massively sporulate once in several years for unknown reasons (Barsukova, 2001).

The seasonality of sporophore formation in myxomycetes varies across the world depending on the climate. In regions without snowy winters, the abundance and diversity of myxomycetes are higher in warm and moist seasons compared to cool and dry seasons (Stephenson et al., 2004b; Ko Ko et al., 2011). In the boreal zone, the periods of mass sporulation are thought to occur in early to mid-autumn (Eliasson, 1981; Vlasenko, Novozhilov, 2011; Gmoshinskiy, Matveev, 2016), when nights become cooler than in the relatively dry and warm beginning of summer, the dew falls abundantly, and the precipitation is usually high (Schnittler et al., 2022).

The Polistovo-Lovatskaya bog system is located in the west of the East European Plain. Research and nature conservation in this area are facilitated by the Polistovsky and Rdeysky nature reserves in the Pskov and Novgorod regions, respectively. The proximity of the Polistovo-Lovatskaya bog system to the warm Baltic Sea results in temperate continental climate with humid summers and warm winters with frequent thaws. In January, the average monthly temperature is -8.1°C and the average snow cover reaches 20–30 cm, but the snow completely disappears by mid-April, sometimes even in March. The average temperature of July is 17°C . The average annual precipitation is 685 mm, 40% of which falls in the summer months in the form of short showers with thunderstorms (Zavyalov, 2022). However, according to the recent data from the Kholmensk weather station collected from 2009 to 2021, the average precipitation has increased significantly and now amounts to 771 mm (Zavyalov, 2022). The microclimate of the bog system has a number of peculiarities. For example, due to the low thermal conductivity of peat, the bog surface heats more in summer and thaws slowly in spring so that individual blocks of ice can persist until mid-May. In the warm season, the bog vapors increase the air humidity. The high water holding capacity of bogs provides water inflow in dry years and drainage in rainy years (Reshetnikova et al., 2006).

The Polistovo-Lovatskaya bog system is part of the Lovat district of the Severodvinsko-Verkhnedneprovskaya subprovince of the North European taiga province (Aleksandrova, Yurkovskaya, 1989). Most of the forest areas in the bog and along its edges have been subjected to

anthropogenic pressure in the last centuries, the intensity of which has significantly decreased after World War II. Thus, a significant part of the forests is represented by young single-age stands, mostly spruce or mixed (with spruce, birch, aspen, alder, etc.). Small areas of coniferous-broadleaf forests are confined either to uplands or to well-drained areas along river valleys. The herb layer is dominated by taiga small herb species (Reshetnikova et al., 2007).

MATERIALS AND METHODS

Study area. Specimens of myxomycete sporophores were collected in the Polistovsky (from 2018 to 2021) and Rdeysky (in 2020 and 2021) state nature reserves and adjacent territories. The material was collected in trips of 7–10 days conducted 2–3 times per field season at different times of the year. A total of 8 expedition trips were made, during which 57 sample plots (Fig. 1) about 100×100 m in size were surveyed. The sampling effort was identical in all surveys within one expedition trip. A group of 2–3 people spent 60 min in the sample plots. Sporophore specimens were collected throughout the snowless period, from March to the end of October. In May, June and November, no surveys were made for technical reasons.

For convenience of data processing, all plots were grouped by location:

Vicinity of the Fryunino village, edge of the bog (R1): Loc. 1 ($N57.07747^{\circ}$, $E30.73317^{\circ}$): 30.09.2020, 14.07.2021; Loc. 2 ($N57.07580^{\circ}$, $E30.73447^{\circ}$): 30.09.2020, 14.07.2021; Loc. 3 ($N57.09136^{\circ}$, $E30.72548^{\circ}$): 01.10.2020, 12.07.2021; Loc. 4 ($N57.09343^{\circ}$, $E30.72402^{\circ}$): 01.10.2020, 12.07.2021; Loc. 5 ($N57.09311^{\circ}$, $E30.72947^{\circ}$): 01.10.2020; Loc. 6 ($N57.09219^{\circ}$, $E30.72915^{\circ}$):

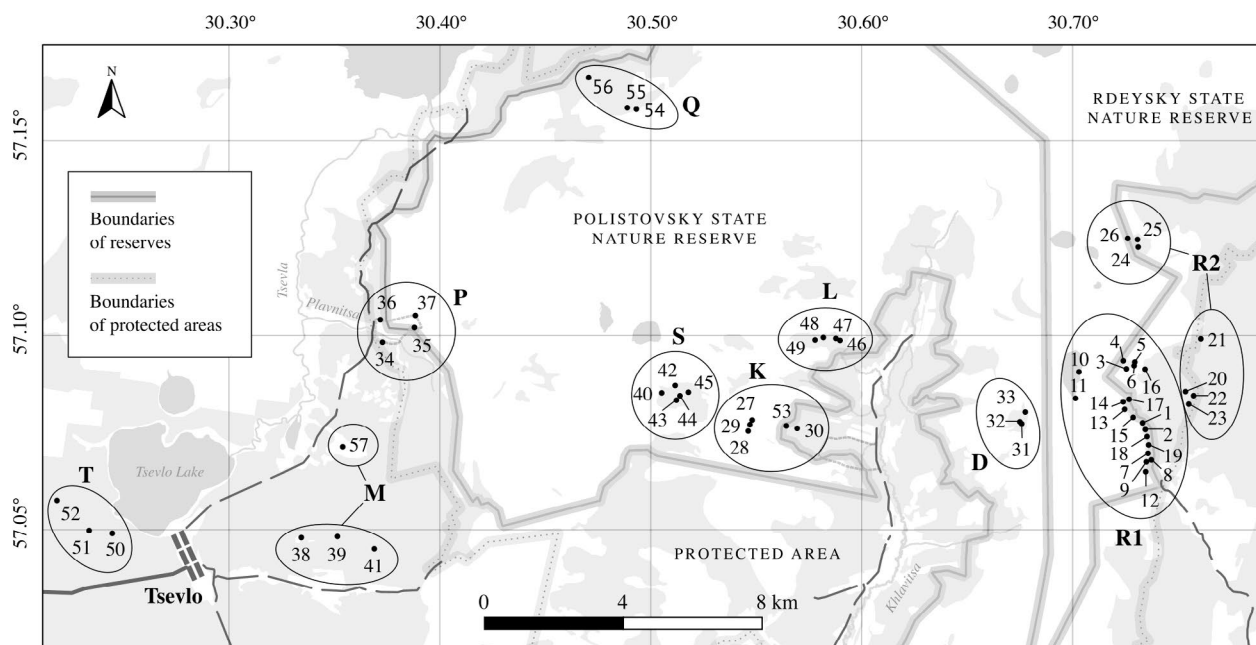


Fig. 1. Schematic map of study area. Points indicate 56 sampled plots.

01.10.2020, 12.07.2021; Loc. 7 (N57.06966°, E30.73573°): 02.10.2020, 19.07.2021; Loc. 8 (N57.06797°, E30.73731°): 02.10.2020, 19.07.2021; Loc. 9 (N57.06747°, E30.73497°): 02.10.2020, 19.07.2021; Loc. 10 (N57.09060°, E30.70301°): 03.10.2020; Loc. 11 (N57.08379°, E30.70135°): 03.10.2020. Loc. 12 (N57.06496°, E30.73463°): 03.10.2020, 19.07.2021; Loc. 13 (N57.08098°, E30.72466°): 04.10.2020, 13.07.2021; Loc. 14 (N57.08290°, E30.72396°): 04.10.2020, 13.07.2021; Loc. 15 (N57.07890°, E30.72867°): 04.10.2020, 13.07.2021; Loc. 16 (N57.09127°, E30.73434°): 12.07.2021; Loc. 17 (N57.08355°, E30.72676°): 13.07.2021; Loc. 18 (N57.07397°, E30.73525°): 14.07.2020; Loc. 19 (N57.07183°, E30.73602°): 14.07.2020.

Mixed forests on the edge of a bog near Fryunino village (R2): Loc. 20 (N57.08553°, E30.75351°): 17.07.2021; Loc. 21 (N57.09913°, E30.76080°): 17.07.2021; Loc. 22 (N57.08447°, E30.75736°): 17.07.2021; Loc. 23 (N57.08231°, E30.75506°): 17.07.2021; Loc. 24 (N57.12268°, E30.73109°): 18.07.2021; Loc. 25 (N57.12463°, E30.73076°): 18.07.2021; Loc. 26 (N57.12490°, E30.72612°): 18.07.2021.

Koroleva Borina Island (K): Loc. 27 (N57.078211°, E30.548037°): 28.08.2019, 27.07.2020, 19.10.2020, 25.03.2021, 13.07.2021; Loc. 28 (N57.075392°, E30.546172°): 28.08.2019, 27.07.2020, 19.10.2020, 25.03.2021, 13.07.2021; Loc. 29 (N57.077021°, E30.546965°): 28.08.2019, 27.07.2020, 19.10.2020, 25.03.2021, 13.07.2021; Loc. 30 (N57.076061°, E30.569385°): 28.08.2019, 27.07.2020, 19.10.2020, 25.03.2021, 13.07.2021; Loc. 53 (N57.076715°, E30.564218°): 25.03.2021.

Dubovets Island (D): Loc. 31 (N57.077252°, E30.675861°): 29.08.2019, 28.07.2020, 20.10.2020, 15.07.2021; Loc. 32 (N57.077772°, E30.674964°): 29.08.2019, 28.07.2020, 20.10.2020, 15.07.2021; Loc. 33 (N57.080269°, E30.677567°): 29.08.2019, 28.07.2020, 20.10.2020, 15.07.2021.

Plavnitskoe bog (P): Loc. 34 (N57.098263°, E30.372753°): 07.09.2018, 30.08.2019, 31.07.2020, 24.10.2020, 27.03.2021, 13.07.2021; Loc. 35 (N57.101996°, E30.387909°): 30.08.2019, 31.07.2020, 24.10.2020, 27.03.2021, 19.07.2021; Loc. 36 (N57.104007°, E30.371716°): 30.08.2019, 31.07.2020, 24.10.2020, 19.07.2021; Loc. 37 (N57.105113°, E30.388360°): 30.08.2019, 31.07.2020, 24.10.2020, 27.03.2021, 19.07.2021.

Vicinities of Mazurovo and Tereshikha localities (M): Loc. 39 (N57.048300°, E30.351386°): 31.08.2019, 01.08.2020, 18.07.2021; Loc. 38 (N57.048006°, E30.334258°): 08.09.2018, 31.08.2019, 01.08.2020, 23.10.2020, 18.07.2021; Loc. 41 (N57.045130°, E30.368872°): 04.09.2018, 31.08.2019, 01.08.2020, 23.10.2020, 18.07.2021; Loc. 57 (N57.071356°, E30.353906°): 11.09.2018.

Sleptnoe locality (S): Loc. 40 (N57.085199°, E30.505156°): 02.09.2019, 29.07.2020, 21.10.2020, 14.07.2021; Loc. 42 (N57.087105°, E30.511542°): 02.09.2019, 29.07.2020, 21.10.2020, 14.07.2021; Loc. 43 (N57.083305°, E30.512137°): 03.09.2019, 29.07.2020, 22.10.2020, 14.07.2021; Loc. 44 (N57.084458°, E30.513806°): 10.09.2018, 03.09.2019, 29.07.2020, 22.10.2020, 14.07.2021; Loc. 45 (N57.085370°, E30.517817°): 10.09.2018, 03.09.2019, 29.07.2020, 21.10.2020, 14.07.2021.

Osinovy Island (L): Loc. 46 (N57.09871°, E30.58971°): 26.03.2021, 12.07.2021; Loc. 47 (N57.09922°, E30.58775°): 26.03.2021, 12.07.2021; Loc. 48 (N57.09948°, E30.58180°): 26.03.2021, 12.07.2021; Loc. 49 (N57.09883°, E30.57788°): 26.03.2021, 12.07.2021.

Forest by Tsevo Lake (T): Loc. 50 (N57.04909°, E30.24463°): 28.03.2021, 17.07.2021; Loc. 51 (N57.04981°, E30.23364°): 28.03.2021, 17.07.2021; Loc. 52 (N57.05754°, E30.21841°): 28.03.2021, 17.07.2021.

Polisto Lake vicinities, quarters 14–15 (Q): Loc. 54 (N57.158131°, E30.493145°): 5.09.2018; Loc. 55 (N57.158491°, E30.488823°): 5.09.2018; Loc. 56 (N57.166274°, E30.470525°): 6.09.2018.

Methods for collecting and identifying sporophores of myxomycetes. Sporophores were collected using standard methods (Wrigley de Basanta, Estrada-Torres, 2022; Novozhilov et al., 2022) described in our first works on the biota of the Polistovsky (Gmoshinskiy, Matveev, 2019) and Rdeysky nature reserves (Borzov et al., 2021). This work adopts the concept of morphospecies like most modern monographs (Martin, Alexopoulos, 1969; Novozhilov, 1993; Neubert et al., 1993, 1996, 2000; Ing, 1999; Poulain et al., 2011a, b; Stephenson, 2021). In the present work, the classic system based on the morphology of myxomycete sporophores (Lado, Eliasson, 2022) is used, and the names and authors of taxa are given according to the Nomenmyx information system (Lado, 2005–2023). Despite the fact that the genus *Ceratiomyxa* belongs to the class Ceratiomyxomycetes rather than Myxomycetes (Leontyev et al., 2019), we included its only representative, *Ceratiomyxa fruticulosa* (O.F. Müll.) T. Macbr. in order to compare our data with the results of previous studies (Vlasenko, Novozhilov, 2011; Matveev, Gmoshinskiy, 2016).

Statistical data processing. Species diversity was measured using the Hill numbers (Hill, 1973), a parametric family of metrics based on the inverse of the weighted power mean of relative species abundances: ${}^qD = (\sum_{i=1}^S p_i^q)^{1/(1-q)}$, where S is the number of species, p_i is the relative abundance of species i , and q is the order determining the sensitivity of the function to abundance.

Species richness (at order $q = 0$), the exponential Shannon index (at q tending to 1), and the inverse of the Simpson index (at $q = 2$) are special cases of the Hill numbers. Diversity continuous q -profile characterizes the species relative abundance distribution best: species richness has high sensitivity to rare species, Shannon diversity is balanced with respect to abundance, and Simpson diversity is most influenced by dominant species.

Since empirical diversity values strongly depend on the sample size, statistical estimation was used to make a more fair comparison of results. For asymptotic estimation of diversity, a method based on the slopes between neighboring points of the species accumulation curve was used (Chao, Jost, 2015).

A parametric family of metrics dependent on the order q was used to determine the completeness of detected species diversity (Chao et al., 2020). The theoretical formula ${}^qC = (\sum_{i \in \text{det}} p_i^q) / (\sum_{i=1}^S p_i^q)$ is equal to the ratio of the sums of abundances (raised to the power of q) for sampled species and all species present in the general population (natural community). Since quantitative data for the general population are most often unknown, a statistical estimate qC is used. In the special case of $q = 0$ it is equal to the

conventional measure of completeness, ${}^0C = S_{\text{obs}}/S_{\text{Chao1}}$ which is widely used in ecological studies of myxomycetes. It represents the ratio of detected species richness and its estimate, expressed according to the formula by A. Chao (Chao, 1984). When $q = 2$, the measure is equal to sample coverage ${}^1C = \sum_{i \in \text{det}} p_i$, first proposed by A. Turing (Good, 1953), which is interpreted as the proportion of individuals in the general population belonging to the species identified in the sample. The coverage estimate is equal to ${}^1C = 1 - (1/f_1)(A(1 - A)/(\sum_{x_i \geq 2} X_i(X_i - 1)/[n(n - 1)])$, where $A = 2f_1/[(n - 1)f_1 + 2f_2]$, n is the total number of count units, f_1 is the number of singletons (species represented by one count unit), f_2 is the number of species represented by two count units, X_i is the empirical absolute abundance of species i . This measure is less sensitive to sample size than 0C . In addition, it quantifies sample completeness when all specimens are treated equally, in contrast to the conventional measure (which disproportionally sensitive to rare species), and may therefore be preferable when interpreting the results (Chao et al., 2020).

The Sørensen similarity coefficient was used for pairwise comparison of species lists: $C_{\text{Sor}} = 2c/(a + b)$, where c is the number of common species for two biotas, a is the number of species in the first biota, b is the number of species in the second biota (Sørensen, 1948).

Calculations were performed in the statistical environment R4.2.1 (R Core Team, 2022). The diversity and completeness of the sample set were evaluated using the iNEXT.4step 1.0.1 package (Chao, Hu, 2023). The vegan 2.6.4 package was used for pairwise comparisons of periods using the Sørensen index and for non-metric multidimensional scaling (Oksanen et al., 2022).

RESULTS AND DISCUSSION

During 4 field seasons, 3394 specimens of myxomycete sporophores were collected, 3359 of which were identified to species level and are discussed below. A total of 162 species from 40 genera, 11 families and 6 orders were identified. For convenience, all results were summarized by decades of the survey months. However, for the most accurate interpretation of the results, it should be noted that sporophores of most species are able to persist in natural conditions for a long period of time (sometimes up to half a year).

The number of identified species varies considerably depending on the survey period (Table 1). The highest number of species (88) was identified during expeditions in Polistovsky nature reserve between 20–30 August 2019 and between 10–20 July 2021. In total, 104 species were identified during the expedition conducted in July 2021. This high diversity is due to the large number of sampling areas investigated and, as a consequence, a large sampling effort. At the same time, the summer of 2021 in the study area was characterized by very high air temperatures (up to 35 °C) combined with abundant heavy rainfall, which probably created favorable conditions for the formation of myxomycete sporophores. The ratio of the number of detected species to the Chao1 species richness estimator (a conventional measure of completeness) ranged from 68.5% for 10–20 July 2021 to 82.5% in July 2020 (Table 1), indicating that species diversity was sufficiently detected.

Thus, it can be concluded that for comparable sampling efforts, both the highest number of specimens and the highest number of taxa detected were observed during the summer months.

Table 1. Characteristics of myxomycete biota of the Polistovo-Lovatskaya bog system in different time periods

Decades		March–III (P)	July–II (P)	July–II (R)	July–III (P)	August–III (P)	September–I (P)	October–I (R)	October–III (P)	Total
Number of specimens		259	743	479	450	653	227	188	360	3359
Species richness		47	88	74	68	88	54	56	58	162
Number of species found during this period alone		6	9	4	3	13	3	9	7	
Estimate of species diversity	⁰ D	61	128.4	100.4	82.4	122.7	78.1	66.7	72.7	196.2
	¹ D	29.6	48.8	48.6	40.8	51.7	46	43.4	34.7	67.9
	² D	18.7	30.6	33.7	24.5	29	27.9	31	21.1	44.2
Sample completeness,%	⁰ C	77	68.5	73.7	82.5	71.7	71.7	80.9	79.8	82.6
	¹ C	94.2	96.4	95.2	96.2	96.2	89.4	93	95	98.9

Note. Roman numerals indicate decades in the corresponding months. The reserve where the material was collected is indicated in brackets: R – Rdeysky Nature State Reserve, P – Polistovsky Nature State Reserve.

It is important to note that the value of the Shannon diversity was significantly lower between 20–30 March and 20–30 October compared to other study periods (Table 1), indicating the presence of some medium-to-high abundance species in the biota, whereas the other species were much less frequent. The six most abundant species [*Trichia botrytis* s.l. (J.F. Gmel.) Pers., *Hemitrichia decipiens* (Pers.) García-Cunch., J.C. Zamora et Lado, *Metatrichia vesparia* (Batsch) Nann.-Bremek. ex G.W. Martin et Alexop., *Oligonema persimile* (P. Karst.) García-Cunch., J.C. Zamora et Lado, *T. varia* (Pers. ex J.F. Gmel.) Pers., and *Lycogala epidendrum* s.l. (L.) Fr.] accounted for 51.4% of the total number of finds. In other months, this share was much lower. Therefore, during the rest of the year, the Shannon diversity was much higher (Table 1). Similar patterns can be observed for Simpson's diversity. Its lowest values are observed between 20–30 March and between 20–30 October (18.7 and 21.1, respectively), while in other periods its values range from 24.5 to 33.7.

Pairwise comparisons were made between species lists obtained at different time periods using the Sørensen coefficient (using binary presence-absence data, i.e. without taking abundance into account). The highest similarity was observed between pairs of species lists obtained during the summer months (mid-July and late August) and late July and September ($C_{\text{Sor}} = 0.67$). In contrast, the greatest differences compared to the other periods were observed in the species lists identified in late March (Table 2).

Non-metric multidimensional scaling results confirm the differences in species composition and abundance (Fig. 2). Differences between the samples in mid-summer, late-summer, early-autumn and late autumn – spring periods are clearly expressed. The outlier in the Plavitskoe group of sample plots (point P) in September 2018 is explained by the fact that in this period only one plant

association from this group with a small sample of specimens, including some rare species, was investigated.

Differences are also observed at the level of the taxonomic structure of the biota. To make comparisons with results from other regions, specimens studied during one-decade period during different expeditions were combined together. In early spring and autumn, the greatest diversity (representation of orders by species) of the *Trichiales* order representatives can be detected in the field, while in the summer months there is a relative decrease in their abundance (Fig. 3). The greatest diversity and abundance of representatives of the order *Stemonitidales* is observed in mid-summer, and closer to the autumn their relative proportion in the biota gradually decreases. For representatives of the order *Physarales*, on the contrary, an increase in species diversity and abundance is observed in early autumn (Figs. 3). It is important to note the unusual biota structure revealed in the

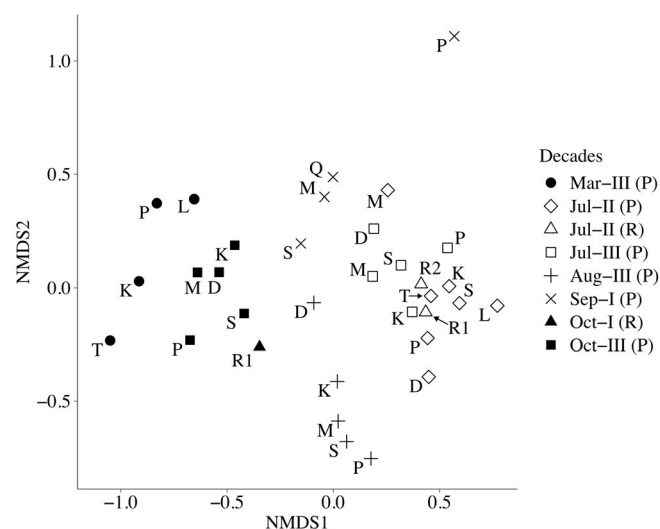


Fig. 2. Results of non-metric multidimensional scaling. Sample areas are grouped by geographical position (see materials and methods section).

Table 2. Values of the Sørensen coefficient for different periods of material collection

Collection periods	March–III (P)	July–II (P)	July–II (R)	July–III (P)	August–III (P)	September–I (P)	October–I (R)	October–III (P)
March–III (P)	1							
July–II (P)	0.46	1						
July–II (R)	0.51	0.72	1					
July–III (P)	0.52	0.68	0.66	1				
August–III (P)	0.52	0.64	0.62	0.62	1			
September–I (P)	0.53	0.55	0.55	0.67	0.56	1		
October–I (R)	0.52	0.50	0.48	0.58	0.56	0.6	1	
October–III (P)	0.59	0.53	0.56	0.59	0.60	0.55	0.58	1

Note. Roman numerals indicate decades of the corresponding months. The reserve where the material was collected is indicated in brackets: R – Rdeysky Nature State Reserve, P – Polistovsky Nature State Reserve.

second decade of July 2020. During this period, the greatest diversity was observed among representatives of the order *Cribrariales*, while the proportion of representatives of the order *Physarales* significantly decreased. The contribution of other orders remained at the same level.

Considering relative abundances of orders (representation by specimens) and the total number of specimens collected during the corresponding period, we can see that while in spring and autumn months *Trichiales* is the dominant order, in mid-summer there is a gradual decrease in their abundance (Fig. 3). In August, there was a simultaneous decrease in the abundance of the order *Cribrariales* and a significant increase in the representation of *Physarales*. Similar phenomena were observed when analyzing the seasonal differences in sporulation in the Moscow region (Matveev, Gmoshinskiy, 2016) and the Novosibirsk region (Vlasenko, Novozhilov, 2011). This fact may indicate different temperature and humidity optima for the formation of sporophores by representatives of these orders. However, it should be taken into account that in our study this phenomenon is well expressed only between 20–30 August. Thus, additional long-term observations on standardized plots are required to confirm this hypothesis.

No strong differences in the representation of myxomycetes substrate complexes between the collection periods were detected (Fig. 4). The observed outliers in some months are largely explained by the peculiarities of sampling and, presumably, by weather conditions. Additional studies are needed to fully explain the fluctuations in the ratio between substrate complexes and to establish the factors influencing the substrate confinement of myxomycetes and its expression in different phenological periods.

The core biota (species making up at least 3% of all observations) is formed by 9 species: *Physarum album* (Bull.) Chevall. (5.7%), *Arcyria cinerea* (Bull.) Pers.

(4.8%), *Lycogala epidendrum* s.l. (4.8%), *Stemonitis axifera* (Bull.) T. Macbr. (4.3%), *Metatrichia vesparia* (3.9%), *Trichia varia* (3.9%), *Hemitrichia decipiens* (3.6%), *A. affinis* Rostaf. (3.6%), and *Ceratiomyxa fruticulosa* (3%). However, depending on the season when the material was collected, the list of the core biota varied considerably. Fig. 5 and 6 shows the proportion of species in the biota during different phenological periods. All species diversity can be roughly divided into 5 categories:

1) Mid-summer species. Quite a large number of myxomycete species have relatively short periods of sporophore formation in mid-summer, when warm weather with high precipitation was observed in the years of research. Such species include *Arcyria cinerea* (Fig. 5, k), *Ceratiomyxa fruticulosa* (Fig. 5, j), *Cribraria cancellata* (Batsch) Nann.-Bremek. (Fig. 5, i), *Stemonitis axifera* (Fig. 5, f), *Stemonitopsis typhina* (F.H. Wigg.) Nann.-Bremek. (Fig. 5, h), *Stemonitopsis hyperopata* (Meyl.) Nann.-Bremek. (Fig. 5, g). For these species, we made similar observations on the seasonality of sporophore formation in the Moscow region (Matveev, Gmoshinskiy, 2016). In the Moscow region, these species begin massive sporulation in late May and reach their peak abundance in June and mid-July, with a significant decrease in the number of their findings afterwards.

2) Late summer-autumn species. This group includes *Hemitrichia calyculata* (Speg.) M.L. Farr (Fig. 6, c), *Physarum album* (Fig. 6, a), and *Oligonema favogineum* (Batsch) García-Cunch., J.C. Zamora et Lado (Fig. 6, g). Reaching the maximum in late August-early September, their abundance decreases strongly by October.

3) Autumn species. These are *Arcyria stipitata* (Schwein.) Lister. (Fig. 6, j), *Metatrichia floriformis* (Schwein.) Nann.-Bremek. (Fig. 6, h), and *Trichia varia* (Fig. 6, i). They are formed in early autumn and possess comparatively fragile sporophores, which are almost

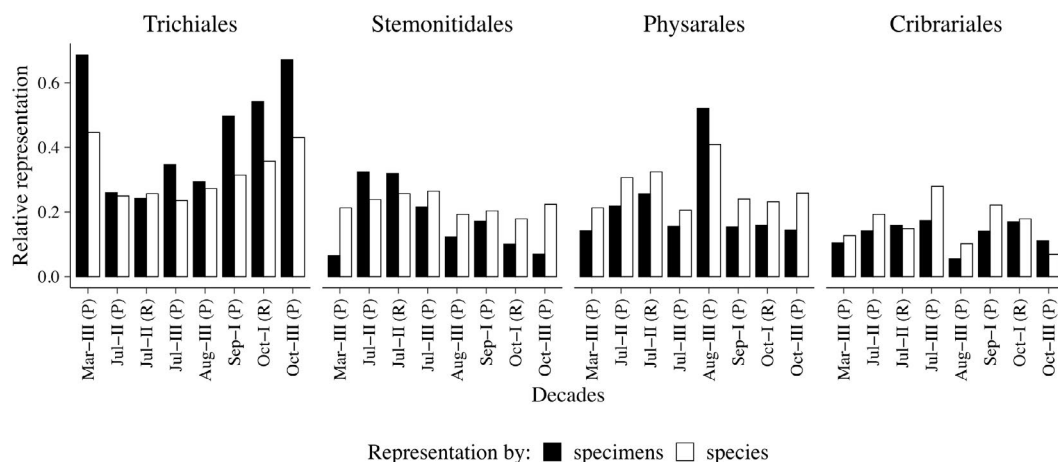


Fig. 3. Number of species (white bars) and specimens (black bars) belonging to different orders in % of the total number of specimens collected during the corresponding period.

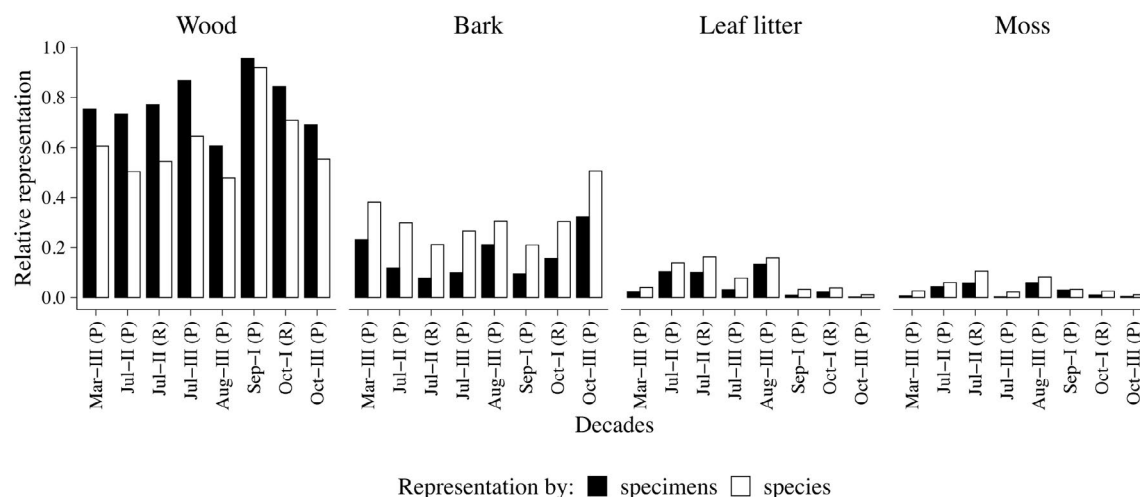


Fig. 4. Relative representation of substrate types (by specimens and by species of myxomycetes) in different periods of material collection. Due to specimen occurrences on mixed substrates, the sum of abundances can exceed 100% in some decades.

completely destroyed under snow. Therefore, their detection in spring months is quite rare.

4) Spring species. In the present study, this group includes *Oligonema persimile* (Fig. 5, c), *Trichia botrytis* s.l. (Fig. 5, b), *T. contorta* (Ditmar) Rostaf. (Fig. 5, a), *Licea variabilis* Schrad. (Fig. 5, d), and *Hemitrichia decipiens* (Fig. 6, l). Most likely, sporophores of these species are formed in late autumn and persist under snow during winter due to their relatively large colony size and dense peridium. This is supported by an increase in their abundance in the third decade of October. It should be noted that no species of the nivicolous group were found during the present study.

5) Species found throughout the entire growing season. This group includes *Lycogala epidendrum* s.l. (Fig. 6, k) and *Metatrichia vesparia* (Fig. 6, f). These species possess large and somewhat dense sporophores that do not collapse for a long time. Thus, their proportion among the identified taxa is always quite high. At the same time, this does not mean that these species do not have seasonality of sporulation. We did not record the degree of preservation of sporophores *in situ* because it is hard to assess objectively in many species and, therefore, could not draw conclusions about their age. In addition, it should be taken into account that *Lycogala epidendrum* s.l. is a complex of species (Leontyev et al., 2022, 2023), whose members may be characterized by individual seasonality of sporophore formation requiring additional research.

The study also revealed species that had strictly defined periods of mass formation of sporophores. For example, in the territory of the Polistovo-Lovatskaya bog system, mass development of *Badhamia lilacina* (Fr.) Rostaf. (Fig. 6, d) starts from around 20 August on the surface of *Sphagnum* and *Polytrichum* mosses in forest wetlands, where these mosses form a continuous cover

on the soil (Borzov, Gmoshinskiy, 2020). We observed a similar phenomenon in the Central Forest State Nature Reserve (Nelidovsky urban district, Tver Region). Due to the large size of sporophores, they can persist for a long time and can be found until the very end of the growing season, and sometimes even in the next year. However, we did not observe the formation of new sporophores of this species between 1–10 October as well as in spring or mid-summer. All specimens were heavily water-damaged and most likely persisted on the substrate for a long period of time.

Tatyana Nikolaevna Barsukova, in the course of long-term observations of myxomycete abundance at the Zvenigorod biological station of the Moscow State University, showed that some species can form sporophores once in several years (Barsukova, 2001). As one of the examples in her work, she cites *Leocarpus fragilis* (Dicks.) Rostaf. that forms sporophores once every 2–3 years in the Moscow region. According to our observations, this species can indeed massively form sporophores in some years, while in other years it could be almost completely absent from our collections. Thus, in August 2019, the proportion of specimens of this species was 9% of the total number, while among the collections made between 1–10 September 2018, the proportion of finds of this species was only 0.4% of the total number (Fig. 6, b).

Between 1–10 July 2021, mass development of *Valtolecarpus trechisporus* (Berk. ex Torrend) Gmoshinskiy, Prikhodko, Bortnikov, Shchepin et Novozh. (= *Symphytolecarpus trechisporus* (Berk. ex Torrend) Nann.-Bremek.) was observed. This species is quite rare. Earlier it was only recorded in the territory of the Republic of Karelia (Bortnikov et al., 2020). However, in the summer of 2021, its sporophores were massively formed in black alder and mixed forests. Notably, sporophores were

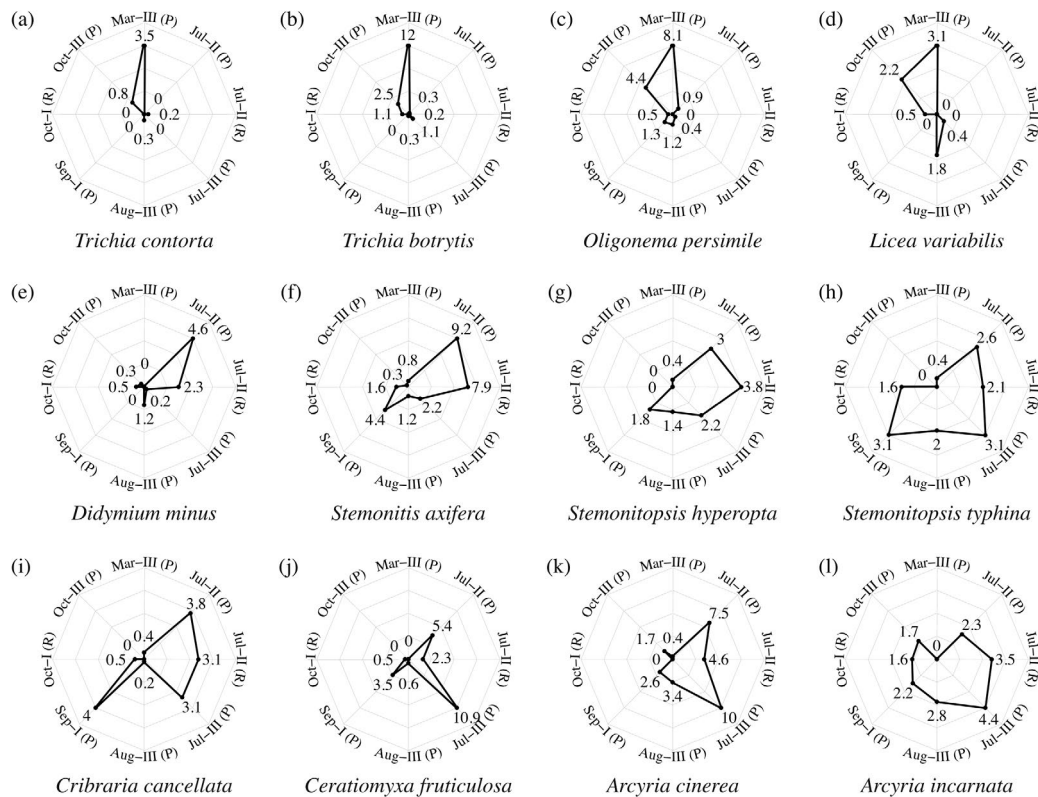


Fig. 5. Seasonality of sporophore formation for the most widespread species of myxomycetes from the Polistovo-Lovatskaya bog system (part 1).

formed so abundantly that it was impossible to count all large pseudoethalia in some sample plots. Thirty-seven specimens of this species were recorded in the database. A similar burst of this species was recorded by us in the same time period in the Central Forest state nature reserve 200 km east of the study area as well as in the Taldom district of the Moscow region (Gmoshinskiy V.I., unpublished). Thus, with an example of this species, we conclude that some species can stay in the trophic stage hidden in the substrate for a long period of time and form sporophores only under a combination of certain conditions.

We also noted sharp population increase of some species in certain time periods. For example, all seven finds of *Diderma tigrinum* (Schr.) Prihodko et al. were made in March. Apparently, the sporophores had persisted under snow since late autumn. In July 2021, sporophores of *Didymium proximum* Berk. et M.A. Curtis (26 specimens) were found on the surface of *Sphagnum* sp. along the edges of bogs, being the first records in the study area. Between 20–30 August, sporophores of *Didymium melanospermum* (Pers.) T. Macbr. were formed (31 specimens). Again, we have not recorded this species during other studies.

Thus, different species of myxomycetes have not only a certain seasonality of sporophore formation, but also

can form them not every year, which should be taken into account when planning field work.

CONCLUSION

The obtained results confirm the assumption that many species of myxomycetes have seasonal formation of sporophores. Despite the fact that the greatest diversity is found in the period from mid- to late summer, there are many species that form sporophores either in late autumn or early spring. For some of the most common species, periods of mass sporulation can be traced, while others, in contrast, can be found in the field throughout the entire snowless period. Some species of myxomycetes do not form sporophores every year. For these species, there are occasional bursts of abundance that are probably associated with weather conditions suitable for their sporulation. In the spring and autumn months, representatives of the order *Trichiales* take the lead in both abundance and diversity, while in summer their proportion is significantly reduced. Mass development of representatives of the order *Physarales* is observed from mid-summer to mid-autumn. Thus, a comprehensive research on the species diversity of myxomycetes in a particular territory requires long-term studies, which should be carried out in different phenological periods from snow melt to snow fall.

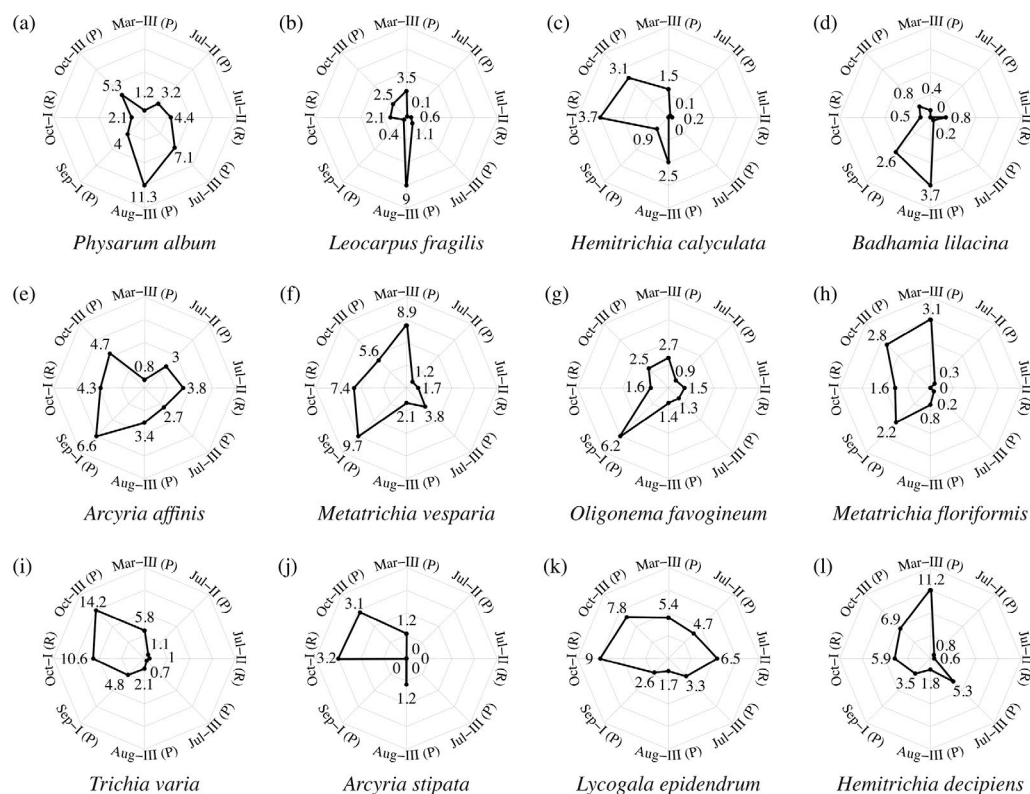


Fig. 6. Seasonality of sporophore formation for the most widespread species of myxomycetes from the Polistovo-Lovatskaya bog system (part 2).

We express our special gratitude to the managers and staff of the Polistovsky state nature reserve and the Rdeysky state nature reserve and personally to N.P. Korablev, V.V. Krolikov, N.A. Zavalov, S. Yu. Igosheva, as well as to the inspectors of the conservation department of the reserves who provided transport accessibility and safety during the fieldwork. Field work by V.I. Gmshinskiy was supported by the Polistovsky nature reserve (FEA project № 1-22-66-3). Identification of specimens was supported by the grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (№ 075-15-2021-1396).

The work of the third author was supported by the state task "Taxonomic, ecological and structural-functional diversity of fungi and fungus-like protists", 12401310-0829-3 (Komarov Botanical Institute RAS)

REFERENCES

- Adl S.M., Bass D., Lane C.E. et al. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of *Eukaryotes*. J. Eukaryot. Microbiol. 2019. V. 66 (1). P. 4–119. <https://doi.org/10.1111/jeu.12691>
- Alexandrova V.D., Yurkovskaya T.K. Geobotanical zoning of the Non-Black Earth Region of the European part of the RSFSR. L., Nauka, 1989 (in Russ.).
- Bailly J., Fraissinet-Tachet L., Verner M.C. et al. Soil eukaryotic functional diversity, a metatranscriptomic approach. ISME J. 2007. V. 1. P. 632–642. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.68>
- Barsukova T.N. Ecological and biological features of myxomycetes of Zvenigorod Biological Station. Trudy Zvenigorodskoy biologicheskoy stantsii. 2001. V. 3. P. 90–91 (in Russ.).
- Bortnikov F.M., Matveev A.V., Gmshinskiy V.I. et al. Myxomycetes of Russia: a history of research and a checklist of species. Karstenia. 2020. V. 58 (2). P. 316–373. <https://doi.org/10.29203/ka.2020.502>
- Borzhov N.I., Bortnikov F.M., Matveev A.V., Gmshinskiy V.I. First data on plasmodial slime moulds (*Myxomycetes* = *Myxogastrea*) of Rdeysky Nature Reserve (Novgorod Region, Russia). Novosti Sist. Nizsh. Rast. 2021. V. 55 (2). P. 361–377. <https://doi.org/10.31111/nsnr/2021.55.2.361>
- Borzhov N.I., Gmshinskiy V.I. *Badhamia lilacina*: rare or poorly studied species? Polistovskaya pravda. 2020. V. 4(28). P. 7–9 (in Russ.).
- Chao A. Non-parametric estimation of the classes in a population. Scand. J. Stat. 1984. Vol. 11. P. 265–270.
- Chao A., Hu K. iNEXT4steps: four steps of INTERpolation and EXTrapolation analysis. R package version 1.0.1. 2023 (дата обращения: 26.08.2023).
- Chao A., Jost L. Estimating diversity and entropy profiles via discovery rates of new species. Methods Ecol. Evol. 2015.

- V. 6 (8). P. 873–882.
<https://doi.org/10.1111/2041-210X.12349>
- Chao A., Kubota Y., Zelený D. et al. Quantifying sample completeness and comparing diversities among assemblages. *Ecol. Res.* 2020. V. 35 (2). P. 292–314.
<https://doi.org/10.1111/1440-1703.12102>
- Eliasson U.H. Patterns of occurrence of myxomycetes in a spruce forest in South Sweden. *Holarc. Ecol.* 1981. V. 4. P. 20–31.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1981.tb00976.x>
- Gmoshinskiy V.I., Matveev A.V. First data on *Myxomycetes* of Polistovsky Nature Reserve (Pskov Region). *Novosti Sist. Nizsh. Rast.* 2019. V. 53 (2). P. 279–290.
<https://doi.org/10.31111/nsnr/2019.53.2.279>
- Gmoshinskiy V.I., Matveev A.V. Seasonal dynamics of sporophore formation in myxomycetes of Moscow and Moscow Region. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2016. V. 50 (3). P. 139–147.
- Good I.J. The population frequencies of species and the estimation of population parameters. *Biometrika.* 1953. V. 40 (3/4). P. 237–264.
<https://doi.org/10.1093/biomet/40.3-4.237>
- Hill M.O. Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences. *Ecology.* 1973. V. 54 (2). P. 427–432.
<https://doi.org/10.2307/1934352>
- Ing B. The myxomycetes of Britain and Ireland. London, The Richmond Publishing Co. Ltd., 1999.
- Ko Ko T.W., Stephenson S.L., Hyde K.D., Lumyong S. Influence of seasonality on the occurrence of myxomycetes. *Chiang Mai Journal of Science.* 2011. V. 38. P. 71–84.
- Lado C. 2005–2023. An online nomenclatural information system of *Eumycetozoa*. <http://www.nomen.eumycetozoa.com>. Accessed 15.05.2023.
- Lado C., Eliasson U. Taxonomy and systematics: current knowledge and approaches on the taxonomic treatment of *Myxomycetes*: updated version. In: C. Rojas, S. L. Stephenson (eds.). *Myxomycetes: biology, systematics, biogeography, and ecology.* 2nd edition. Academic Press, L., 2022. P. 269–324.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824281-0.00005-1>
- Leontyev D., Buttgerit M., Kochergina A. et al. Two independent genetic markers support separation of the myxomycete *Lycogala epidendrum* into numerous biological species. *Mycologia.* 2022. V. 115 (2). P. 1–12.
<https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2133526>
- Leontyev D., Ishchenko Y., Schnittler M. Fifteen new species from the myxomycete genus *Lycogala*. *Mycologia.* 2023. V. 115 (4). P. 1–37.
<https://doi.org/10.1080/00275514.2023.2199109>
- Leontyev D.V., Schnittler M., Stephenson S.L. et al. Towards a phylogenetic classification of the *Myxomycetes*. *Phytotaxa.* 2019. V. 399 (3). P. 209–238.
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.399.3.5>
- Martin G.W., Alexopoulos C.J. The *Myxomycetes*. University of Iowa Press, Iowa, 1969.
- Neubert H., Nowotny W., Baumann K. Die Myxomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Österreichs. Bd 1: *Echinosteliales, Liceales, Trichiales.* Gomaringen. Karlheinz Baumann Verlag, 1993.
- Neubert H., Nowotny W., Baumann K. Die Myxomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Österreichs. Bd 2: *Physarales.* Gomaringen. Karlheinz Baumann-Verlag, 1995.
- Neubert H., Nowotny W., Baumann K. Die Myxomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Österreichs. Bd 3: *Stemonitales.* Gomaringen. Karlheinz Baumann Verlag, 2000.
- Novozhilov Yu.K., Rollins A.W., Shchepin O.N. et al. Ecology and distribution of myxomycetes. In: C. Rojas, S. L. Stephenson (eds.). *Myxomycetes: biology, systematics, biogeography, and ecology.* 2nd Edition. Academic Press, L., 2022. P. 325–376.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824281-0.00010-5>
- Novozhilov Yu.K., Malysheva V.F., Malysheva Ye.F. et al. Hidden diversity of fungi and fungus-like protists in natural ecosystems: problems and prospects. *Biosfera.* 2016. V. 8 (2). P. 202–215 (in Russ.).
<https://doi.org/10.24855/biosfera.v8i2.244>
- Novozhilov Yu.K. Definitorium Fungorum Rossiae. Issue 1. Class Myxomycetes. Nauka, SPb., 1993 (in Russ.).
- Oksanen J., Simpson G., Blanchet F. et al. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.6-4, <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. 2022. Accessed: 26.08.2023.
- Poulain M., Meyer M., Bozonnet J. Les *Myxomycetes*. Tome 1. Sévriér, Fédération mycologique et botanique Dauphiné-Savoie, 2011a.
- Poulain M., Meyer M., Bozonnet J. Les *Myxomycetes*. Tome 2. Planches. Sévriér, Fédération mycologique et botanique Dauphiné-Savoie, 2011b.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>. 2022. Accessed: 26.08.2023.
- Reshetnikova N.M., Korolkova E.O., Novikova T.A. Vascular plants of the Polistovsky Nature Reserve. Moscow, Komissia RAN po sokhraneniю biologicheskogo raznoobrazia i IPEE RAN, 2006 (in Russ.).
- Reshetnikova N.M., Korolkova K.O., Zueva N.V. Vascular plants of the Rdeysky Nature Reserve. Moscow, 2007 (in Russ.).
- Ronikier A., Halamski A.T. Is *Myxomycetes (Amoebozoa)* a truly ambiregnal group? A major issue in protist nomenclature. *Protist.* 2018. V. 169 (4). P. 484–493.
<https://doi.org/10.1016/j.protis.2018.05.002>
- Schnittler M., Dagamac N.H.A., Woyzichowski J. et al. Biogeographical patterns in myxomycetes. In: C. Rojas, S.L. Stephenson (eds.). *Myxomycetes: biology, systematics, biogeography, and ecology.* 2nd edn. Academic Press, L., 2022. P. 377–416.
- Schnittler M., Novozhilov Y.K. The myxomycetes of boreal woodlands in Russian northern Karelia: a preliminary report. *Karstenia.* 1996. V. 36. P. 19–40.
<https://doi.org/10.29203/ka.1996.316>
- Shchepin O.N., Schnittler M., Erastova D.A. et al. Community of dark-spored myxomycetes in ground litter and soil of taiga

- forest (Nizhne-Svirskiy Reserve, Russia) revealed by DNA metabarcoding. *Fungal Ecol.* 2019. Vol. 39. P. 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.11.006>
- Sørensen T. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content. *K. Dansk. Vidensk. Selsk. Skr.* 1948. Bd 5 (4). P. 1–34.
- Stephenson S.L. Secretive slime moulds. *Myxomycetes of Australia*. Melbourne, ABRIS. CSIRO Publishing, Canberra, 2021.
- Stephenson S.L., Fiore-Donno A.M., Schnittler M. *Myxomycetes in soil*. *Soil Biol. Biochem.* 2011. V. 43 (11). P. 2237–2242. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.07.007>
- Stephenson S.L., Schnittler M., Lado C. et al. Studies of Neotropical mycetozoans. *Syst. Geogr. Plants.* 2004. V. 74. P. 87–108.
- Urich T., Lanzén A., Q.J., Huson D.H. et al. Simultaneous assessment of soil microbial community structure and function through analysis of the meta-transcriptome. *PLOS One.* 2008. V. 3 (6). e2527. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002527>
- Vlasenko A.V., Novozhilov Yu.K. Phenological features of myxomycetes in the pine forests on the right bank part of the Upper Ob river. *Rastitelnyi mir aziatskoy Rossii.* 2011. V. 2(2). P. 3–8 (in Russ.).
- Wrigley de Basanta D., Estrada-Torres A. Techniques for recording and isolating myxomycetes: updated. In: C. Rojas, S.L. Stephenson (eds). *Myxomycetes: biology, systematics, biogeography, and ecology*. 2nd edn. Academic Press, L., 2022. P. 417–452. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824281-0.00015-4>
- Zavyalov N.A. Weather. *Letopis prirody gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika "Rdeyskiy"*. Rdeyskiy zapovednik, Kholm, 2022 (in Russ.).
- Александрова В.Д., Юрковская Т.К. (Alexandrova, Yurkovskaya) Геоботаническое районирование Нечерноземья европейской части РСФСР. Л.: Наука, 1989. 59 с.
- Барсукова Т.Н. (Barsukova) Эколого-биологические особенности миксомицетов Звенигородской биологической станции // Труды Звенигородской биологической станции. 2001. Т. 3. С. 90–91.
- Борзов Н.И., Гмошинский В.И. (Borzov, Gmoshinskiy) *Badhamia lilacina*: редкий или малоизученный вид? // Полистовская правда. 2020. № 4 (28). С. 7–9.
- Власенко А.В., Новожилов Ю.К. (Vlasenko, Novozhilov) Фенологические особенности миксомицетов сосновых лесов правобережной части верхнего Приобья // Растительный мир Азиатской России. 2011. № 2 (2). С. 3–8.
- Завьялов Н.А. (Zavyalov) Погода / Летопись природы государственного природного заповедника "Рдейский". Холм: Рдейский государственный заповедник. 2022. 341 с.
- Новожилов Ю.К. (Novozhilov) Определитель грибов России. Отдел Слизевика. Вып. 1. Класс Миксомицеты. СПб.: Наука. 1993. 288 с.
- Новожилов Ю.К., Малышева В.Ф., Малышева Е.Ф. и др. (Novozhilov et al.) Скрытое разнообразие грибов и грибоподобных протистов в природных экосистемах: проблемы и перспективы // Биосфера. 2016. Т. 8 (2). С. 202–215.
- Решетникова Н.М., Королькова Е.О., Новикова Т.А. (Reshetnikova et al.) Сосудистые растения заповедника "Полистовский". М.: Комиссия РАН по сохранению биологического разнообразия и ИПЭЭ РАН. 2006. 98 с.
- Решетникова Н.М., Королькова К.О., Зуева Н.В. (Reshetnikova et al.) Сосудистые растения Рдейского заповедника. М.: Комиссия РАН по сохранению биологического разнообразия. 2007. 89 с.

Сезонность формирования спороношений миксомицетов (*Myxomycetes*) Полистово-Ловатской болотной системы (Псковская и Новгородская области, Россия)

В. И. Гмошинский^{a, #}, Н. И. Борзов^{a, ##}, Ф. М. Бортников^{b, ###}, А. В. Матвеев^{a, ####}

^a Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

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

[#]e-mail: rubisco@list.ru

^{##}e-mail: borzovnikita@bk.ru

^{###}e-mail: f.m.bortnikov@gmail.com

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

Представлены результаты четырех лет наблюдений за сезонностью формирования спороношений миксомицетов, выполненных на территории Полистово-Ловатской болотной системы. Показано, что наибольшее видовое разнообразие миксомицетов наблюдается в середине лета, после чего оно постепенно снижается. Видовой состав миксомицетов изменяется в зависимости от времени года. Выделены 5 фенологических групп: весенние, летние, раннеосенние, позднеосенние и виды без ярко выраженных периодов массового формирования спороношений. Показано, что в разные годы перечень выявляемых таксонов может значительно отличаться и существуют широко распространенные виды, которые формируют спороношения не каждый год. Таким образом, при проведении исследований в полевых условиях, необходимо планировать их в течение нескольких лет, а выезды осуществлять на протяжении всего бесснежного периода.

Ключевые слова: биоразнообразие, динамика численности, методология полевых исследований, слизевика, фенология.

КОМПЛЕКСЫ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ БУГРИСТЫХ БОЛОТ В ГОРНЫХ ЛАНДШАФТАХ ПРИПОЛЯРНОГО УРАЛА

© 2024 г. В. А. Ковалева^{1,*}, Ю. А. Виноградова^{1,**}, Е. М. Лаптева^{1,***}, С. В. Денева^{1,****},
Е. М. Перминова^{1,*****}

¹ Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 167982 Сыктывкар, Россия

*e-mail: kovaleva@ib.komisc.ru

**e-mail: vinogradova@ib.komisc.ru

***e-mail: lapteva@ib.komisc.ru

****e-mail: denewa@rambler.ru

*****e-mail: perminova@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 29.04.2023 г.

После доработки 13.10.2023 г.

Принята к публикации 28.12.2023 г.

Исследованы численность и видовой состав культивируемых микроскопических грибов в торфяных буграх и мочажинах плоскобугристых болот в горных ландшафтах Приполярного Урала (северная часть национального парка “Югыд ва”, Республика Коми). Численность грибов в исследуемых торфяных почвах варьирует в пределах 0.4–242 тыс. КОЕ/г а.с.п. с максимальными значениями в верхнем слое живых мхов Болота I – 242 ± 66.2 тыс. КОЕ/г а.с.п. В мочажинах болот численность микромицетов относительно невысока: в мочажине Болота I – 28.6 ± 7.1 тыс. КОЕ/г а.с.п., в мочажине Болота II – 32.9 ± 25.5 тыс. КОЕ/г а.с.п. Таксономический список культивируемых микромицетов включает 61 вид грибов из 15 родов, двух отделов и стерильный мицелий. Отдел *Mucoromycota* представлен 17 видами из родов *Absidia*, *Actinomucor*, *Mucor*, *Mortierella*, *Umbelopsis*. Большая часть выделенных грибов относится к отделу *Ascomycota* (43 вида из 10 родов). Доминирует по числу видов род *Penicillium* (21 вид). По частоте встречаемости структура комплекса микромицетов болотного массива представлена редкими и случайными видами – 53%, на долю видов часто встречающихся и доминирующих приходится соответственно 34 и 13%. Группа доминантов по частоте встречаемости представлена видом *Pseudogymnoascus pannorum* и стерильным мицелием. К часто встречающимся относятся виды: *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium canescens*, *P. granulatum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. verrucosum*, *Talaromyces funiculosus*. Наиболее обильны в слое живых мхов – *Penicillium spinulosum* (17%), *P. thomii* (18%), *Talaromyces funiculosus* (19%). В сезоннотальных слоях торфа высоким обилием характеризуются виды: *Pseudogymnoascus pannorum* (11%), *Talaromyces funiculosus* (14%) и стерильный мицелий (16%). В глеевых горизонтах доминирующим по обилию является вид *Pseudogymnoascus pannorum* (78%), а в мерзлых слоях торфа обнаружены только единичные колонии стерильного мицелия.

Ключевые слова: бугристые болота, микроскопические грибы, Приполярный Урал, торфяники.

DOI: 10.31857/S0026364824030044, **EDN:** viydlq

ВВЕДЕНИЕ

Болота занимают огромные пространства по всему земному шару и на территории России. В Республике Коми их площадь составляет порядка 10% от общей площади региона. Болотные экосистемы играют особую роль в круговороте углерода в биосфере (Vitt et al., 2000; Turunen et al., 2002). С одной стороны, они обеспечивают сток углерода из атмосферы, накапливая его в виде торфяных залежей, с другой – являются

мощнейшим источником парниковых газов (Schneider et al., 2018). Смещение равновесия между потреблением и производством углекислого газа и метана влияет на изменения функций болотных экосистем (Strack et al., 2004; Andersen et al., 2006). Соотношение между интенсивностью потоков углерода определяется продуктивностью болотных экосистем, глубиной торфяной залежи и скоростью минерализации растительных остатков (Andersen et al., 2013). Для оценки роли болот в углеродном балансе биосферы

необходимо расширить представления о структуре и составе микробных сообществ торфяных почв, особенно в северных регионах, и их функций в преобразовании органического вещества.

Условия, сформировавшиеся в торфяной залежи, определяют превалирование микроскопических грибов в разнообразии микробных сообществ (Andersen et al., 2006). Почвенные микромицеты имеют физиологическую и метаболическую адаптацию к низким температурам и концентрации кислорода, кислой реакции среды, недостатку питательных элементов в торфяниках, и, кроме этого, они участвуют в разложении сложных полимеров органического вещества с помощью синтеза внеклеточных ферментов (Thormann et al., 2004; Thormann, 2006b; Golovchenko et al., 2013).

В настоящее время получены данные о таксономическом составе комплексов культивируемых микромицетов в торфяных почвах болот бореальной зоны (Thormann et al., 2001; Golovchenko et al., 2002, 2013; Thormann, Rice, 2007; Grum-Grzhymaylo, Bilanenko, 2012; Khabibullina et al., 2014; Sizonenko et al., 2016; Grum-Grzhymaylo et al., 2018). Установлены некоторые особенности таксономического состава грибов в сезонноталых слоях торфяных почв мерзлотных бугристых болот лесотундры (Lapteva et al., 2017; Vinogradova et al., 2019) и южной тундры европейского северо-востока России (Vinogradova et al., 2021; Vinogradova et al., 2023). При этом для целостной картины видового разнообразия микромицетов арктического региона недостаточно данных о видовом разнообразии микромицетов в торфяных почвах болотных комплексов как равнинной части криолитозоны, так и ее горных массивов.

В горных ландшафтах Урала болотные экосистемы, по сравнению с равнинными, занимают незначительные территории, но они представлены практически во всех высотных поясах. В отличие от торфяников равнинных территорий, формирование мерзлотных бугристых болот в условиях Приполярного Урала связано как с историей торфонакопления, так и с геологическими процессами и процессами аллювиальной седиментации, что обуславливает наличие в толще торфяной залежи минеральных прослоек (Goncharova et al., 2017). При этом болота Урала слабо изучены как с точки зрения их типологии, характеристики растительности, так и оценки почвообразовательных процессов (Goncharova et al., 2017; Joosten et al., 2017). Территории Приполярного Урала представляют собой огромное многообразие болотных комплексов депрессий и склонов. Бугристые болота Приполярного Урала приурочены к районам с суровым климатом и наличием

многолетнемерзлых грунтов. В торфяных отложениях и многолетнемерзлых торфах таких экосистем законсервировано значительное количество органического углерода (Pastukhov, 2016, 2022). Именно такие болотные экосистемы, развивающиеся в экстремальных условиях, имеют высокий потенциал видового разнообразия почвенных микроорганизмов, определяющих функционирование болот в глобальном масштабе.

Цель работы заключалась в выявлении особенностей состава комплексов микроскопических грибов торфяных почв бугристых болот горных ландшафтов Приполярного Урала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на территории Республики Коми в горных ландшафтах Приполярного Урала (северная часть национального парка “Югыд ва”). Болотные массивы на Приполярном Урале относительно невелики по размерам. Бугристые болота приурочены чаще всего к крупным межгорным котловинам, обычно связаны с долинами рек, петляющих по плоскому днищу котловин, обязательным при этом является наличие мерзлых грунтов.

Объектами исследования послужили два болотных массива, приуроченных к межгорной долине р. Балбанью. Болото I расположено у подножия склона горы Старик-из ($65^{\circ}10'20.8''$ с.ш., $60^{\circ}14'16.9''$ в.д.), Болото II расположено на надпойменной террасе в межгорной долине реки ($65^{\circ}11'47.2''$ с.ш., $60^{\circ}13'31.8''$ в.д.) (рис. 1).

Торфяные бугры в пределах рассматриваемых болот плоские, имеют овальную форму. Ширина бугров 15–50 м, длина — до 200 м, высота — около 0.5–1.5 м. Поверхность торфяных бугров мелкобугорковатая, мочагин — мелкокочковатая. Мерзлота в них залегает на глубине 40–60 см, в мочажинах — за пределами метрового слоя почвы. Общая мощность торфяной залежи невысокая — от 30–40 см в поймах рек до 1–1.5 м в болотных массивах у подножия горных склонов.

Растительный покров торфяных бугров довольно однообразный: кустарничково-лишайниковый или кустарничково-морошково-мохово-лишайниковый. Он образован типичными для кустарничковых тундр и северных болот видами: *Andromeda polifolia*, *Betula nana*, *Empetrum hermaphroditum*, *Eriophorum vaginatum*, *Ledum palustre*, *Oxycoccus microcarpus*, *Rubus chamaemorus*, *Vaccinium uliginosum*. В напочвенном покрове наряду со мхами (*Sphagnum fuscum*, *Sphagnum russowii*, *Polytrichum strictum*) господствуют лишайники (*Cladonia arbuscula*, *C. rangiferina*,



Рис. 1. Объекты исследования (межгорная долина р. Балбаныю, Приполярный Урал): А – Болото I; Б – Болото II.

C. gracilis, *C. cuculata*, *Flavocetraria nivalis*, *F. cuculata*, *Peltigera scabrosa* и др.).

Растительность мочажин (топей) отличается большим разнообразием и представлена осоково-моховыми, осоково-сфагновыми, разнотравно-моховыми сообществами. В травяно-кустарничковом ярусе доминируют *Betula nana*, *Comarum palustre*, *Carex aquatilis*, *C. rariflora*, *C. chordorrhiza*, *Comarum palustre*, *Calamagrostis lapponica*, *Equisetum fluviatile*, *Eriophorum russeolum*, *Rubus chamaemorus*, моховой покров сложен сфагновыми (*Sphagnum lindbergii*, *S. riparium*, *S. warnstorffii*), бриевыми (*Warnstorfia exannulata*, *Paludella squarrosa* и др.) и печеночными мхами.

Почвы бугров – торфяные олиготрофные мерзлотные, мочажин – торфяные олиготрофные. Специфической особенностью почв торфяных бугров является их разнокачественное строение (табл. 1), обусловленное как спецификой формирования торфяной залежи в течение длительной истории эволюции болотной экосистемы, так и особенностями миграции веществ с поверхностным стоком в условиях горных ландшафтов и процессами поемно-аллювиальной седиментации. Верхняя часть торфяной залежи, характеризующая современные условия формирования болотных экосистем, представлена типичным верховым торфом (ТО). В его составе преобладает *Sphagnum fuscum* при участии *S. angustifolium* и *S. russowii*. В срединной части (глубина 38–55 см) торф имеет осоково-сфагновый и пушицево-сфагновый состав (ТТ1). Нижние слои торфа (глубже 55–65 см) сложены преимущественно остатками осок и гипновых мхов (ТТ2). На глубинах 22–38 см (Болото I), 18–55 см (Болото II, профиль а) и 32–48 (Болото II, профиль б) в торфяной залежи четко прослеживаются прослойки опесчанного суглинка (G), содержащего значительное

количество растительных остатков кустарников (карликовой березки, ив) и пушицы. Степень разложения торфа изменяется по глубине залежи от 3 до 40%.

Образцы торфа для изучения состава и структуры комплекса культивируемых микроскопических грибов отбирали из мочажин Болота I и Болота II и опорных разрезов на торфяных буграх Болота I и Болота II (профиль а и профиль б) в соответствии с общепринятыми методиками и соблюдением стерильных условий (Kurakov, 2001). Из каждого слоя и каждой глубины сезонноталого слоя (СТС) образцы отбирали методом ручной выемки в трехкратной повторности с учетом изменения ботанического состава торфа и степени его разложенности, из мерзлого слоя – с использованием бура. До начала микологических исследований образцы торфа хранили в морозильной камере при температуре –18 ... –20 °С.

Выделение микроскопических грибов проводили методом посева из серийных разведений на агаризованные среды (среда Чапека, сусло-агар, среда Сабуро) в пятикратной повторности для каждого образца (Methods..., 1991). Численность культивируемых грибов выражали в колонии образующих единицах в расчете на грамм абсолютно сухой почвы (КОЕ/г а.с.п.) Отдельные колонии грибов отсеивали, начиная с пятых сут, окончательный учет колоний микромицетов проводили на 7–10-е сут.

Идентификацию выделенных чистых культур проводили на основании культурально-морфологических признаков с использованием определителей для конкретной таксономической группы (Ellis, 1971; Ramirez, 1982; Egorova 1986; Pitt, 1991; Aleksandrova et al., 2006; Domsch et al., 2007). Название и положения таксонов унифицировали с

Таблица 1. Строение почвенных профилей и глубины отбора проб в опорных разрезах, заложенных в пределах торфяных бугров и мочажин исследованных болотных комплексов

Болото I				Болото II					
Торфяной бугор		Мочажина		Торфяной бугор (профиль а)		Торфяной бугор (профиль b)		Мочажина	
Горизонт	Глубина, см	Горизонт	Глубина, см	Горизонт	Глубина, см	Горизонт	Глубина, см	Горизонт	Глубина, см
СЖМ ¹	0–2	ТО ²	0–20	СЖМ	0–3	СЖМ	0–3	ТО	0–10
О	2–4	—	—	ТО	3–8	ТО	3–10	ТО	10–20
ТО	4–10	—	—	ТО	8–14	ТО	12–20	—	—
ТО	10–18	—	—	ТОte	14–18	ТОte	20–32	—	—
ТОte	18–22	—	—	G	18–22	G1	32–42	—	—
G	22–30	—	—	G	22–32	G1 ⊥	42–48	—	—
G	30–38	—	—	G	32–45	—	—	—	—
ТТ1	38–45	—	—	G	45–55	—	—	—	—
ТТ1	45–50	—	—	ТТ1 ⊥	55–65	—	—	—	—
ТТ2	55–60	—	—	—	—	—	—	—	—
ТТ2 ⊥ ³	60–70	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. ¹Слой живого мха; ²образцы торфа не отбирали из-за обводненности профиля (мочажины) или наличия мерзлоты (торфяные бугры); ³знаком ⊥ отмечены мерзлые слои торфа.

использованием международной базы данных Index Fungorum (2023).

Для характеристики комплекса культивируемых микромицетов использовали индексы видового разнообразия Шеннона (H), выравненности Пилелу (E), доминирования Симпсона (D) (Magurran, 1992), а также показатели частоты встречаемости и относительного обилия видов (Kurakov, 2001). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью плагина программы “ExcelToR” (Novakovskiy, 2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая численность микромицетов

Согласно данным литературы, численность почвенных микроскопических грибов в торфяниках арктического региона, развивающихся в суровых природно-климатических условиях, варьирует в достаточно широких пределах. Так, в верховых болотах Кандалакшского залива Белого моря численность разных видов почвенных грибов изменяется в пределах 10^3 – 10^5 КОЕ/г в.с.п. (Grum-Grzhymaylo, Bilanenko, 2012). В плоскобугристых болотах лесотундры европейского Северо-Востока численность микромицетов в профиле торфяной залежи варьирует от 10^2 до 10^4 КОЕ/г а.с.п. (Vinogradova et al., 2019), в бугристых болотах тундры – от 10^3 до 10^5 КОЕ/г а.с.п. (Lapteva et al., 2017; Vinogradova et al., 2021; Vinogradova et al., 2023). В болотных комплексах

Приполярного Урала численность почвенных микроскопических грибов в верхних слоях торфяных почв составляет 0.4–242 тыс. КОЕ/г а.с.п. Это выше по сравнению с почвами и грунтами Полярного Урала, где численность микроскопических грибов 0.9–4.9 тыс. КОЕ/г (Kirtsideli, 2016).

Среди изученных профилей максимальными значениями общей численности микромицетов отличается слой живых мхов почвы торфяного бугра Болота I – 242.0 ± 66.2 тыс. КОЕ/г а.с.п. (рис. 2, а). В аналогичных слоях профилей Болота II-а и Болота II-б численность микромицетов значительно ниже и составляет – 41.7 ± 14.4 и 81.2 ± 6.8 тыс. КОЕ/г а.с.п. соответственно. Это может быть обусловлено спецификой расположения болотных комплексов в ландшафте и различиями в их теплообеспеченности: Болото I занимает подножие восточного, более прогреваемого склона горного массива, Болото II находится в тени северо-западного склона.

Наиболее низкими значениями численности микромицетов характеризуются мочажины. В мочажине Болота I численность микромицетов – 28.6 ± 7.1 тыс. КОЕ/г а.с.п., в мочажине Болота II – 32.9 ± 25.5 тыс. КОЕ/г а.с.п. Благодаря значительному пространственному варьированию, численность грибов в верхнем слое (0–20 см) сфагнового торфа мочажин достоверно не различается в рассмотренных болотных комплексах.

В профильном распределении грибов в торфяной залежи Болота I четко выделяется два пика

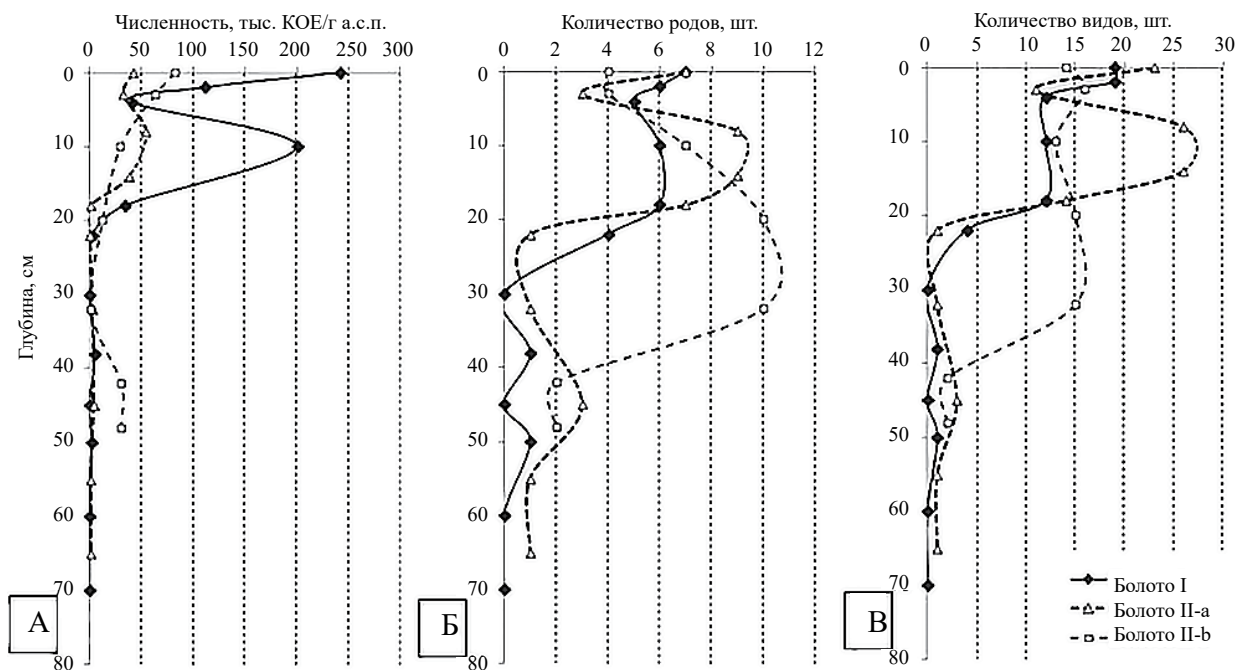


Рис. 2. Профильное распределение численности (А), количества родов (Б) и видов (В) в почвах торфяных бугров болотных комплексов Приполярного Урала.

численности (рис. 2, а). Первый пик приурочен к слою живых мхов и уже отмерших растительных остатков. Он обусловлен высокой численностью микроскопических грибов фитопланы и разных групп деструкторов торфа. Здесь выделено 19 видов микромицетов из 7 родов (рис. 2, б, в). С глубиной видовое разнообразие почвенных грибов снижается. Однако на глубине 8–16 см нами отмечен второй пик численности грибов, появление которого связано с активным ростом колоний вида *Pseudogymnoascus pannorum* на фоне общего уменьшения видов (12 видов из 6 родов). В минеральных слоях профиля (22–38 см) численность и количество видов микромицетов резко снижается и сохраняется на этом уровне в нижележащих мерзлых слоях торфа (рис. 2, а, в). В последних грибы встречаются единично и представлены колониями стерильного мицелия.

В профиле Болота II-a высокая численность микромицетов выявлена в слое живых мхов и в слое торфа на глубине 5–11 см (рис. 2, а). Вниз по профилю торфяной залежи численность грибов снижается и достигает минимума (0.4 ± 0.8 тыс. КОЕ/г а.с.п.) в минеральном слое G (глубина 19–29 см). Распределение численности соотносится с профильным изменением видового разнообразия микромицетов. Максимальное число видов идентифицировано при исследовании образцов, отобранных из слоя живых мхов (23 вида из 7 родов) и верхних слоев торфа на глубине 5–11 см (26 видов из 9

родов), минимальное — на глубине 55–65 см, где в мерзлых слоях торфа обнаружен только стерильный мицелий (рис. 2, б, в).

В профиле Болото II-b максимальными показателями численности микромицетов также характеризуется слой живых мхов (рис. 2, а). Вниз по профилю численность грибов постепенно снижается. Однако в этом профиле отмечен второй пик видового разнообразия грибов, который приурочен к нижним слоям торфа — на глубине 29–39 см он достигает своего максимума (15 видов из 10 родов) и затем резко снижается в минеральных слоях профиля (рис. 2, б, в).

Таксономическая структура и видовое разнообразие комплексов культивируемых микроскопических грибов

Анализ таксономической структуры комплексов микромицетов показал, что в целом почвы бугристых болот Приполярного Урала характеризуются высокими показателями видового разнообразия. Из образцов торфяной залежи болотного массива выделен 61 вид из 15 родов и двух отделов, включая стерильный мицелий (табл. 2).

Отдел *Mucoromycota* представлен 17 видами из двух порядков — *Mortierellales* и *Mucorales*, что составляет 28% от всего видового состава. Наиболее богатый по видовому разнообразию род *Mortierella* представлен семью видами, из которых *Mortierella alpina*

Таблица 2. Структура комплекса микроскопических грибов в торфяных почвах бугристых болот Приполярного Урала (на основе расчета частоты встречаемости, %)

Выделенные виды	Болото I		Болото II		
	Торфяной бугор	Мочажина	Торфяной бугор		Мочажина
			профиль а	профиль б	
<i>Mucoromycota</i>					
<i>Mortierellales</i>					
<i>Mortierella alpina</i> Peyron	40	30	75	50	30
<i>M. horticola</i> Linnem.	—	20	25	25	—
<i>M. humicola</i> Oudem.	20	30	25	50	65
<i>M. turficola</i> Y. Ling	—	—	25	—	—
<i>M. monospora</i> Linnem.	—	—	—	—	15
<i>M. polycephala</i> Coem.	—	—	—	—	30
<i>Mortierella</i> sp.	20	20	75	50	65
<i>Mucorales</i>					
<i>Absidia</i> sp.	—	—	—	50	—
<i>Actinomucor elegans</i> C.R. Benj. et Hesselt.	—	—	—	25	—
<i>Actinomucor</i> sp.	—	—	—	—	15
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	40	—	75	75	—
<i>M. racemosus</i> Fresen.	—	—	25	—	—
<i>Mucor</i> sp.	40	—	100	25	—
<i>Umbelopsis isabellina</i> W.Gams	—	—	50	50	30
<i>U. ramanniana</i> W.Gams	40	—	75	50	15
<i>U. vinacea</i> Arx	20	—	50	50	15
<i>Umbelopsis</i> sp.	—	—	25	—	—
<i>Ascomycota</i>					
<i>Dothideales</i>					
<i>Aureobasidium pullulans</i> G. Arnaud	20	—	25	—	15
<i>Eurotiales</i>					
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	20	—	—	—	—
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx	—	—	25	—	—
<i>P. camemberti</i> Sopp	40	—	25	50	—
<i>P. canescens</i> Sopp	20	—	75	50	—
<i>P. chrysogenum</i> Thom	—	—	10	—	—
<i>P. decumbens</i> Thom	40	—	25	50	—
<i>P. digitatum</i> Sacc.	—	—	25	25	—
<i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling	10	—	—	25	—
<i>P. granulatum</i> Bainier	40	10	75	50	—
<i>P. implicatum</i> Biourge	40	—	—	25	—
<i>P. italicum</i> Wehmer	—	—	25	—	—
<i>P. lanosum</i> Westling	40	—	25	50	—
<i>P. lividum</i> Westling	40	—	50	75	15
<i>P. miczynskii</i> K.M. Zalessky	20	10	25	—	—
<i>P. roqueforti</i> Thom	—	—	—	25	—
<i>P. simplicissimum</i> Thom	60	10	50	50	—
<i>P. spinulosum</i> Thom	40	10	75	75	—
<i>P. thomii</i> K.M. Zalessky	40	—	50	25	15

Таблица 2. Окончание

<i>P. verrucosum</i> Dierckx	40	10	50	75	—
<i>P. waksmanii</i> K.M. Zaleski	20	30	—	—	—
<i>Penicillium</i> sp.	40	—	75	50	—
<i>Talaromyces diversus</i> (Raper et Fennell) Samson, N. Yilmaz et Frisvad	40	10	25	50	15
<i>T. funiculosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert	80	10	50	50	—
<i>T. purpureogenus</i> Samson, N. Yilmaz, Houbraken, Spiereb., Seifert, Peterson, Varga et Frisvad	—	—	10	—	—
<i>Helotiales</i>					
<i>Monilinia</i> sp.	—	—	—	25	—
<i>Oidiodendron flavum</i> Svilv.	—	—	10	—	—
<i>O. griseum</i> Robak	20	—	25	25	15
<i>O. maius</i> G.L. Barron	20	—	25	25	—
<i>O. tenuissimum</i> S. Hughes	—	—	25	25	15
<i>O. truncatum</i> G.L. Barron	—	—	25	25	—
<i>Oidiodendron</i> sp.	—	10	75	50	15
<i>Hypocreales</i>					
<i>Gliocladium</i> sp.	—	—	—	25	—
<i>Metarhizium carneum</i> (Duché et R. Heim) Kepler, S.A. Rehner et Humber	—	30	—	—	—
<i>Trichoderma hamatum</i> Bainier	20	—	50	25	15
<i>T. harzianum</i> Rifai	20	—	75	25	50
<i>T. koningii</i> Oudemans	20	—	75	25	15
<i>T. polysporum</i> (Link) Rifai	—	—	75	25	15
<i>T. sympodianum</i> Kulik	40	—	75	75	30
<i>T. viride</i> Schumach.	20	—	75	25	15
<i>Trichoderma</i> sp.	20	—	75	75	30
<i>Saccharomycetales</i>					
<i>Dipodascus geotrichum</i> (E.E. Butler et L.J. Petersen) Arx	—	—	50	25	—
<i>Thelebolales</i>					
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis et D.L. Lindner	60	30	75	75	30
<i>Mycelia sterilia</i>	80	80	100	75	85

встречается повсеместно. Второй по богатству видами род *Umbelopsis* включает четыре вида, из которых виды *Umbelopsis ramanniana* и *U. vinacea* выявлены с высокой частотой встречаемости только в профилях Болота II. К редко встречающимся видам относятся *Absidia* sp., *Actinomucor elegans*, *Actinomucor* sp.

Часто встречающиеся виды *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea* являются типичными представителями торфяников как таежной, так и тундровой зоны (Golovchenko et al., 2002, 2013; Sizonenko et al., 2016; Vinogradova et al.,

2019, 2021). Это грибы-сапротрофы, использующие в первую очередь легкодоступные сахара в почвах исследуемых биоценозов, что связано с высоким содержанием слабо разложившихся органических веществ, особенно в верхних слоях торфа. Вид *Mucor hiemalis* встречается в самых разнообразных местообитаниях и типах почв, в том числе и торфяниках, способен к росту в широком диапазоне рН и толерантен к анаэробным условиям. В литературе он упоминается как обычный для торфяников вид, способный к деструкции сфагновых мхов

вида *Sphagnum fuscum* (Thormann et al., 2002, 2004; Thormann, Rice, 2007; Domsch et al., 2007).

Остальные 43 вида принадлежат отделу *Ascomycota*, что составляет 70% от общего количества выделенных видов. Отдел представлен 6 порядками (*Dothideales*, *Eurotiales*, *Helotiales*, *Hypocreales*, *Saccharomycetales*, *Thelebolales*). Самый богатый по видовому разнообразию порядок *Eurotiales* содержит 24 вида из двух родов (39% от общего количества видов), включает в себя многовидовой род *Penicillium* (21 вид) и род *Talaromyces*, представленный тремя видами грибов (табл. 2). Грибы родов *Penicillium* и *Talaromyces* в основном являются типичными почвенными сапротрофами, способными развиваться при низкой доступности питательных веществ и усваивать трудноразлагаемые полимерные субстраты в местах, где слабо развиты минерализационные процессы. Благодаря обильному спороношению и мелким легким спорам грибы этих родов распространены повсеместно в тундровых торфяниках (Vinogradova et al., 2021, 2023).

Наиболее часто встречающиеся в торфяных почвах исследуемых болотных массивов виды порядка *Eurotiales* — *Penicillium canescens*, *P. granulatum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. verrucosum* и *Talaromyces funiculosus* — распространены в почвах арктического региона. Они способны расти в широком диапазоне температур, в том числе в экстремально холодных условиях (Kirtsideli, 2009, 2016; Kirtsideli et al., 2014, 2015; Vinogradova et al., 2021; Vinogradova et al., 2023). Вид *Penicillium canescens* отмечен как постоянно встречающийся и входящий в состав типичных доминантов комплексов почв полярных и альпийских регионов (Khabibullina, 2009; Kirtsideli, 2016). Виды *P. granulatum*, *P. verrucosum*, *P. thomii* встречаются в кислых лесных и тундровых почвах северных регионов (Domsch et al., 2007). Вид *P. thomii* вместе с видами *P. lividum*, *P. spinulosum*, характеризующимися высоким обилием, входит в группу доминантов почв верховых болот (Golovchenko et al., 2002, 2013; Grum-Grzhymaylo, Bilanenko, 2010). Он широко распространен в бугристых торфяниках южной тундры (Vinogradova et al., 2021), часто выделяется с живых и мертвых частей сфагновых мхов и активно участвует в процессах минерализации растительных остатков в торфяных залежах (Thormann et al., 2002, 2004; Thormann, 2006a). В наших исследованиях *P. thomii* выделен с разной частотой встречаемости: в Болоте I выделяется в большом обилии только на живых частях мхов, в профиле Болота II а обнаружен в верхних и нижних мерзлых слоях торфа, в профиле Болота II б встречается редко — единичные колонии обнаружены только в мерзлых слоях

торфа. Вид входит в группу редких и случайных видов для сообщества микромицетов мочажины Болота I, в мочажине Болота II не выделен.

Во всех исследованных нами почвах торфяных бугров повсеместно выделяется *P. spinulosum*. Этот вид распространен в кислых почвах северных областей России, Канады и Шотландии, вместе с *Talaromyces funiculosus* он является типичным для торфяников видом (Summerbell, 2005; Grum-Grzhymaylo, Bilanenko, 2012; Golovchenko et al., 2013; Bilanenko, Grum-Grzhymaylo, 2016; Vinogradova et al., 2019; Vinogradova et al., 2021; Vinogradova et al., 2023). Высокая встречаемость *Penicillium spinulosum* отмечена в почвах регионов со значительными суточными и сезонными колебаниями температуры, что характерно для верхних слоев торфяников Арктики и Субарктики. Кроме того, это один из немногих видов, который способен к разложению сфагновых мхов (Thormann et al., 2004). В слое живых мхов рассмотренных нами профилей обилие этого вида составляет 17% от общего обилия видов. В исследованных нами болотных комплексах также часто встречается вид *Talaromyces funiculosus*, способный к активной деструкции сфагновых мхов (Thormann et al., 2004; Thormann, Rice, 2007).

Второй по видовому богатству порядок — *Hypocreales* — включает девять видов (15% от общего количества видов), относящихся к трем родам. Порядок содержит семь видов из рода *Trichoderma* — по насыщенности видами данный род находится на втором месте после рода *Penicillium*. Виды рода *Trichoderma* — типичные почвенные сапротрофы, они широко распространены в северных почвах, а также в бугристых торфяниках равнинной тундры (Vinogradova et al., 2021). Виды *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii* и *T. viride* выделяются в большом количестве из верховых болот (Thormann et al., 2004; Grum-Grzhymaylo, Bilanenko, 2012; Grum-Grzhymaylo et al., 2018). При этом виды *T. hamatum* и *T. harzianum* известны как доминанты в низинных торфяниках (Golovchenko et al., 2013). По результатам наших исследований относительно высокое видовое разнообразие рода *Trichoderma* характерно для всех торфяников, но наиболее часто представители этого рода встречаются в почве профиля Болота II а.

Третьим по количеству видов является порядок *Helotiales*. Он представлен двумя родами (*Oidiodendron*, *Monilinia*). Род *Oidiodendron* включает в себя шесть видов. Известно, что виды рода *Oidiodendron* приурочены к торфяникам, ботанический состав торфяной залежи которых представлен сфагновыми мхами (Thormann et al., 2001, 2002, 2004; Sigler et al., 2005; Thormann, 2006b). Являются эрикоидными

микоризообразователями (*Oidiodendron maius*), способными к разложению лигнина, целлюлозы, хитина и других сложных органических веществ (Golovchenko et al., 2013).

В торфяных почвах болотных комплексов Приполярного Урала одним из доминантов по частоте встречаемости и обилию является вид *Pseudogymnoascus pannorum*, который широко распространен в торфяниках различного генезиса (Golovchenko et al., 2013; Bilanenko, Grum-Grzhymaylo, 2016; Grum-Grzhymaylo et al., 2018). Он относится к психротолерантным видам и обитает преимущественно в почвах тундры в условиях естественной криоконсервации (Shcherbakova et al., 2010; Kochkina et al., 2011, Vinogradova et al., 2019). Особенно активно он развивается в глубинных слоях при совокупном воздействии стрессовых факторов, таких как низкие температуры, анаэробные условия, перепады влажности и pH (Ozerskaya et al., 2008; Shcherbakova et al., 2010; Kochkina et al., 2011), что подтверждается высокими показателями частоты встречаемости и обилия данного вида в наших исследованиях.

Для бугристых торфяников Приполярного Урала, как и для различных почв высоких широт (Khabibullina, 2009; Kirtsideli, 2009; Kirtsideli et al., 2014, 2015), характерно обилие стерильного мицелия. Это является одной из особенностей болотных экосистем (Thormann, Rice, 2007; Sizonenko et al., 2016; Golovchenko et al., 2013, Vinogradova et al., 2019). Утрата почвенными грибами способности спорообразования является физиологической адаптацией к низким температурам почв в северных регионах (Kirtsideli, Tomilin, 1997; Golovchenko et al., 2013).

В целом сообщества микромицетов торфяных почв бугристых болот Приполярного Урала характеризуются высокими значениями индекса видового разнообразия, выравненностью, доминированием в сообществах небольшой группы видов, что подтверждается высокими значениями индексов Симпсона и полидоминантности Вильямса (табл. 3).

Профили Болота II характеризуются высоким видовым разнообразием микроскопических грибов: Болото II а — 48 видов из 11 родов ($H = 2.84$), Болото II б — 45 видов из 13 родов ($H = 2.72$). Наименьшее количество выделенных видов из исследуемых почв торфяников обнаружено в торфяном бугре Болота I — 36 видов из 10 родов ($H = 2.67$) (табл. 3).

В комплексе микромицетов торфяного бугра Болота I доминантами по частоте встречаемости (табл. 2) являются вид *Talaromyces funiculosus* и стерильный мицелий. В группу часто встречающихся видов входят: *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *Penicillium camemberti*, *P. decumbens*, *P. granulatum*, *P. implicatum*, *P. lanosum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. verrucosum*, *Talaromyces diversus*, *Trichoderma sympodanum*, *Pseudogymnoascus pannorum*. К редким и случайным относятся виды: *Mortierella horticola*, *M. humicola*, *Umbelopsis vinacea*, *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. canescens*, *P. glabrum*, *P. miczynskii*, *P. waksmanii*, *Metarhizium carneum*, *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *Oidiodendron griseum*, *O. maius*.

По показателю относительного обилия в слое живых мхов почвы торфяного бугра Болота I доминирующее положение занимают виды: *Penicillium thomii* (37% от общего обилия видов), *Talaromyces funiculosus* (16%), *P. spinulosum* (14%). В верхних сезоннотальных слоях торфа (0–22 см) вместе с *Talaromyces funiculosus* (16%) и *Penicillium spinulosum* (10%) высоким обилием характеризуются *Pseudogymnoascus pannorum* (13%), *Umbelopsis vinacea* (12%) и стерильный мицелий (14%). В минеральном слое (22–38 см) при низкой численности и видовом разнообразии микромицетов (рис. 2, а, б) абсолютные доминанты по обилию — *Pseudogymnoascus pannorum* (42%) и стерильный мицелий (50%).

В торфяной почве профиля Болота II а в группу доминантов по показателям частоты встречаемости, наряду со стерильным мицелием, входят: *Mortierella*

Таблица 3. Показатели видового разнообразия комплексов микроскопических грибов бугристых болот Приполярного Урала

Показатели	Болото I		Болото II		
	Торфяной бугор	Мочажина	Торфяной бугор		Мочажина
			профиль а	профиль б	
Количество выделенных видов	36	16	48	45	25
Индекс видового разнообразия Шеннона (H)	2.67	1.85	2.84	2.72	2.58
Индекс выравненности Пieloу (E)	0.74	0.67	0.73	0.71	0.80
Индекс доминирования Симпсона (1–D)	0.90	0.78	0.90	0.89	0.88
Индекс полидоминантности Вильямса (1/D)	9.94	4.48	10.49	9.11	8.59

alpina, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *Penicillium canescens*, *P. granulatum*, *P. spinulosum*, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *T. polysporum*, *T. sympodanum*, *T. viride*, *Pseudogymnoascus pannorum*. Типичные часто встречающиеся для этого торфяника виды: *Umbelopsis isabellina*, *U. vinacea*, *Penicillium lividum*, *P. thomii*, *P. simplicissimum*, *P. verrucosum*, *Talaromyces funiculosus*, *Trichoderma hamatum*. К редким и случайным видам относятся: *Aureobasidium pullulans*, *Dipodascus geotrichum*, *Mortierella horticola*, *M. humicola*, *M. turficola*, *M. monospora*, *M. polycephala*, *Mucor racemosus*, *Penicillium brevicompactum*, *P. camemberti*, *P. chrysogenum*, *P. decumbens*, *P. digitatum*, *P. lanosum*, *Talaromyces purpleogenus*, *T. diversus*, *Oidiodendron griseum*, *O. tenuissimum*, *O. flavum*, *O. maius*, *O. truncatum*.

Отличительной особенностью этого профиля является то, что в слое живых мхов по обилию доминируют виды рода *Trichoderma*: *Trichoderma hamatum* (16% от общего обилия видов), *T. harzianum* (9%), *T. polysporum* (9%). Вместе с вышеперечисленными видами в группу доминантов по обилию входят стерильный мицелий (14%) и *Talaromyces funiculosus* (9%). В верхних слоях торфа (0–15 см) высоким обилием характеризовались: стерильный мицелий (31%), *Umbelopsis isabellina* (7%), *Trichoderma hamatum* (5%), *T. harzianum* (6%), *Talaromyces diversus* (5%) и *Pseudogymnoascus pannorum* (5%). В минеральном слое (18–55 см) большая часть выросших колоний принадлежала *P. pannorum*, обилие которого в данном горизонте очень высоко — 69%. В нижнем мерзлом слое торфа (55–65 см) зафиксирован рост единичных колоний стерильного мицелия.

В торфяной почве профиля Болота II b по показателям частоты встречаемости доминируют виды: *Mucor hiemalis*, *Penicillium spinulosum*, *Talaromyces funiculosus*, *Pseudogymnoascus pannorum*. В группу часто встречающихся видов входят: *Mortierella alpina*, *M. humicola*, *Umbelopsis isabellina*, *U. ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium canescens*, *P. decumbens*, *P. granulatum*, *P. implicatum*, *P. lanosum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. verrucosum*, *Talaromyces diversus*, *Trichoderma sympodanum*. К редким видам относятся — *Mortierella horticola*, *Actinomyces elegans*, *Penicillium digitatum*, *P. glabrum*, *P. implicatum*, *P. thomii*, *P. roqueforti*, *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. polysporum*, *T. viride*, *Dipodascus geotrichum*, *Oidiodendron griseum*, *O. maius*, *O. tenuissimum*, *O. truncatum*.

В слое живых мхов высокими показателями обилия характеризуются следующие виды: *Penicillium spinulosum* (30% от общего обилия видов), *P. granulatum* (11%), *Talaromyces funiculosus* (27%). В верхних слоях торфа (12–20 см) доминируют *Penicillium spinulosum* (11%) и *Talaromyces funiculosus* (27%),

Pseudogymnoascus pannorum (13%) и *Trichoderma sympodanum* (8%). В нижних слоях профиля (20–42 см), несмотря на то, что сохраняется высокое видовое разнообразие и количество родов даже увеличивается (рис. 2, б, в), большинство видов относятся к группе случайных и только *Pseudogymnoascus pannorum* имеет высокие показатели обилия (21%), а также *Mucor hiemalis* (10%), *Umbelopsis vinacea* (10%) и стерильный мицелий (10%).

Мочажины болот характеризуются относительно невысоким видовым разнообразием (табл. 3). Комплекс микромицетов мочажины Болота I насчитывает 16 видов грибов. Доминирует по частоте встречаемости и обилию стерильный мицелий (32% от общего обилия видов), а также *Pseudogymnoascus pannorum* (15%), *Mortierella alpina* (13%), *M. humicola* (15%). Из мочажины Болота II выделено 25 видов грибов, из которых *Pseudogymnoascus pannorum* доминирует по обилию (12%) вместе с *Umbelopsis isabellina* (10%) и стерильным мицелием (18%). По частоте встречаемости доминируют *Mortierella humicola* и стерильный мицелий.

Сравнительный анализ комплекса культивируемых микромицетов выявил видоспецифичность микромицетов бугристых болот Приполярного Урала. В целом из торфяной залежи (торфяные бугры и мочажина) Болота II выделено 58 видов, Болота I — 39 видов. Общими для рассмотренных бугристых болот являются: *Mortierella alpina*, *M. humicola*, *M. horticola*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium canescens*, *P. camemberti*, *P. decumbens*, *P. granulatum*, *P. lanosum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. spinulosum*, *P. verrucosum*, *P. thomii*, *Talaromyces diversus*, *T. funiculosus*, *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. sympodanum*, *T. viride*, *Dipodascus geotrichum*, *Oidiodendron griseum*, *O. maius*, *Pseudogymnoascus pannorum*.

В исследуемых торфяниках группу доминантов по частоте встречаемости составляют вид *Pseudogymnoascus pannorum* и стерильный мицелий. К часто встречающимся видам относятся: *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium canescens*, *P. granulatum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. verrucosum*, *Talaromyces funiculosus*.

Для всех рассмотренных почв высоким обилием в слое живых мхов характеризуются *Penicillium spinulosum* (17%), *P. thomii* (18%), *Talaromyces funiculosus* (19%). В сезоннотальных слоях торфа доминантами по обилию являются *Pseudogymnoascus pannorum* (11%), *Talaromyces funiculosus* (14%) и стерильный мицелий (16%). В минеральных слоях, где резко сокращаются численность грибов и видовое разнообразие,

доминирующим по обилию является *Pseudogymnoascus pannorum* (78%), а в мерзлых слоях торфа грибы встречаются в виде единичных колоний стерильного мицелия.

Сравнение видового состава сообществ микромицетов, представленных в бугристых болотах Приполярного Урала, с использованием коэффициента Сёренсена — Чекановского (Ks) показывает, что они близки между собой: для пар профилей “Болото I и Болото II-a”, “Болото I и Болото II-b”, “Болото II-a и Болото II-b” величина Ks составляет 76, 80 и 80% соответственно. Вероятно, природные факторы в пределах одного болотного массива на соседних участках определяют формирование аналогичных, но не идентичных грибных сообществ, обладающих своей специфичностью. Видовой состав микромицетов торфяных почв бугристых болот Приполярного Урала имеет сходство с торфяниками равнинных территорий тундры (Vinogradova et al., 2021) и лесотундры (Vinogradova et al., 2019; Vinogradova et al., 2023), где в состав доминантов входят *Talaromyces funiculosus*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Penicillium spinulosum*, *Umbelopsis vinacea* и высоким обилием характеризуется стерильный мицелий. В исследуемых торфяных почвах выявлено преобладание представителей рода *Penicillium*, что является одной из характерных особенностей микромицетных сообществ северных почв (Grishkan, 1997).

Среди выделенных грибов есть космополитные, широко распространенные в разных почвах и природных зонах виды — *Mucor racemosus*, *Umbelopsis isabellina*, *Penicillium canescens*, *P. camemberti*, *P. chrysogenum*, *P. decumbens*, *P. glabrum*, *P. lividum*, *P. implicatum*, *P. lanosum*, *P. simplicissimum* и др., а также виды — типичные представители торфяных залежей, участвующих в разложении сфагновых мхов: *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium granulatum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*.

Кластерный анализ полученных данных подтверждает специфичность комплексов культивируемых микромицетов в разных слоях торфяных залежей (рис. 3). Четко выделяются два кластера, каждый из которых составлен, в свою очередь, еще из двух групп. Первый кластер объединяет в одну группу верхние (слой живых мхов) и нижние мерзлые слои торфяников. Наиболее близки по качественному составу микромицетов слои живых мхов Болота I и Болота II б. Второй кластер объединяет сезоннотальные слои торфяных залежей исследуемых болот, наиболее богатые по разнообразию грибов и близкие по видовому составу. Примыкает к этой группе слой живых мхов профиля Болота II-а. Мочажины изученных болот характеризуются относительно невысоким

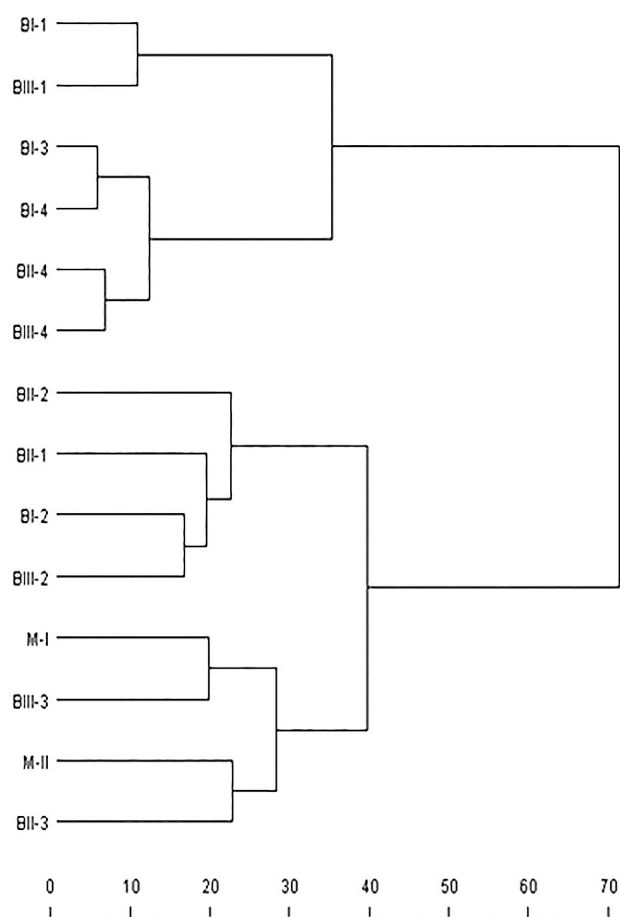


Рис. 3. Дендрограмма сходства комплексов культивируемых микромицетов торфяных почв бугристых болот Приполярного Урала: VI, VII, VIII — Болото I, Болото II-a, Болото II-b соответственно; M-I, M-II — мочажины Болота I и Болота II соответственно; VI-1 — слой живых мхов (СЖМ); VI-2 — слой торфа; VI-3 — минеральный слой; VI-4 — слой мерзлого торфа; VII-1 — СЖМ, VII-2 — слой торфа, VII-3 — минеральный слой; VII-4 — слой мерзлого торфа; VIII-1 — СЖМ; VIII-2 — верхний слой торфа; VIII-3 — нижний слой торфа; VIII-4 — минеральный слой. Кластеризация по Варду; мера расстояния — Манхэттенское расстояние.

видовым разнообразием микромицетов, сходным таксономическим составом как между собой, так с нижними слоями торфа профилей Болота II.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлены закономерности видового разнообразия культивируемых микромицетов в торфяных почвах бугристых болот Приполярного Урала. Показано, что сообщества микроскопических грибов представлены 61 видом из 15 родов, включая стерильный мицелий. Большая часть выделенных грибов относится к отделу *Ascomycota* (43 вида из 10 родов), в котором все выделенные грибы анаморфные,

не способные к образованию телеоморфы в культуре. Отдел включает виды из шести порядков: *Dothideales*, *Eurotiales*, *Helotiales*, *Hypocreales*, *Saccharomycetales*, *Thelebolales*. Доминирует по числу видов род *Penicillium* (21 вид). Отдел *Mucoromycota* представлен 17 видами из пяти родов и двух порядков — *Mortierellales* и *Mucorales*. Сообщества микромицетов торфяных почв бугристых болот Приполярного Урала характеризуются высокими значениями индекса видового разнообразия. Из торфяной залежи (торфяной бугор и мочажина) Болота I выделено 39 видов из 10 родов, а из Болота II (два профиля и мочажина) — 57 видов из 14 родов.

Комплексы почвенных микромицетов представлены преимущественно редкими и случайными видами. Группа доминантов по частоте встречаемости представлена видом *Pseudogymnoascus pannorum* и стерильным мицелием. Наиболее обильны в слое живых мхов *Penicillium spinulosum* (17%), *P. thomii* (18%), *Talaromyces funiculosus* (19%). В сезоннотальных слоях торфа высоким обилием характеризуются *Pseudogymnoascus pannorum* (11%), *Talaromyces funiculosus* (14%) и стерильный мицелий (16%). В минеральных слоях доминирующим по обилию является *Pseudogymnoascus pannorum* (78%), а в мерзлых слоях торфа обнаружены только единичные колонии стерильного мицелия.

Комплексы микромицетов бугристых болот Приполярного Урала представлены как эвритопными видами, так и видами, характерными для торфяных почв разных природных зон: *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium granulatum*, *P. lividum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *Oidiodendron griseum*, *O. maius* и *O. tenuissimum*. Среди доминантов по обилию встречаются типичные представители торфяных залежей, участвующие в разложении сфагновых мхов — *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium granulatum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *Talaromyces funiculosus*.

При сравнении сообществ микромицетов торфяных почв бугристых болот выявлена высокая степень сходства видовых составов. При этом комплексы микромицетов бугристых болот имеют свою специфичность. Так, в профиле Болота II а выявлено высокое обилие видов рода *Trichoderma* и в целом более высокое видовое разнообразие в отличие от двух других биотопов, что, возможно, связано с разнообразием растительного покрова в пределах одного болота в разные периоды формирования торфяной залежи.

Выполнение данной работы позволило получить новый уникальный материал, существенно расширяющий представление о видовом разнообразии торфяных почв. Исследование микромицетов бугристых болот Приполярного Урала в дальнейшем может помочь в характеристике и обосновании процессов функционирования бугристых болотных экосистем в северо-восточном секторе европейской Арктики. Однако выявленный видовой состав микромицетов в торфяных почвах бугристых болот нельзя считать полным как из-за пространственной ограниченности исследований, так и вследствие вариативности видового богатства и структуры грибных сообществ в зависимости от структуры и состава торфяной залежи, характера и истории ее возникновения. Поэтому дальнейшие исследования сообществ почвенных микромицетов бугристых болот высоких широт криолитозоны остаются весьма актуальными.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН “Криогенез как фактор формирования и эволюции почв арктических и бореальных экосистем европейского Северо-Востока в условиях современных антропогенных воздействий, глобальных и региональных климатических трендов” (№ 122040600023-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aleksandrova A.V., Velikanov L.L., Sidorova I.I. Key to species of the genus *Trichoderma*. Mikologiya i fitopatologiya. 2006. V. 40 (6). P. 457–468. . (In Russ.).
- Andersen R., Chapman S.J., Artz R.E. Microbial communities in natural and disturbed peatlands: A review. Soil Biol. Biochem. 2013. V. 57. P. 979–994. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.003>
- Andersen R., Francez A.J., Rochefort L. The physicochemical and microbiological status of a restored bog in Quebec: identification of relevant criteria to monitor success. Soil Biol. Biochem. 2006. V. 38. P. 1375–1387. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.10.012>
- Bilanenko E.N., Grum-Grzhimaylo O.A. A comparative analysis of the cultured micromycetes in oligotrophic peatlands of natural biosphere reservations located in the northern and central parts of Russia. Nature Conserv. Res. 2016. V. 1 (2). P. 90–95. <http://dx.doi.org/10.24189/ncr.2016.019>
- 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.).
- Ellis M.B. Dematiaceous *Hyphomycetes*. Kew, 1971.
- Golovchenko A.V., Kurakov A.V., Semenova T.A. et al. Abundance, diversity, viability, and factorial ecology of fungi in peatbogs.

- Eurasian Soil Sci. 2013. V.46 (1). P. 74–90.
<https://doi.org/10.1134/S1064229313010031>
- Golovchenko A.V., Semenova T.A., Polyakova A.V. et al.* The structure of the micromycete lump plex of oligotrophic peat bogs south taiga subzone of Western Siberia. *Mikrobiologiya*. 2002. V. 71 (5). P. 667–674. (In Russ.).
- Goncharova N.N., Lapteva E.M., Deneva S.V. et al.* Features of the formation of hummocky swamps in the mountain landscapes of the Subpolar Urals. Materials of International Field Symposium “Mire ecosystems of northeast Europe”. Syktyvkar, 2017, pp. 58–65. (In Russ.).
- Grishkan I.B.* Mycobiota and biological activity of soils in the upper Kolyma River. Dalnauka, Vladivostok, 1997. (In Russ.).
- Grum-Grzhymaylo O.A., Bilanenko E.N.* Microfungi as a component of bogs ecosystems. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2010. V. 44 (6). P. 485–496. (In Russ.).
- Grum-Grzhymaylo O.A., Bilanenko E.N.* The micromycete complexes of bogs at the Kandalaksha bay of the white sea. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2012. V. 46. P. 297–305. (In Russ.).
- Grum-Grzhymaylo O.A., Debets A.J.M., Bilanenko E.N.* Mosaic structure of the fungal community in the Kislo-Sladkoe Lake that is detaching from the White Sea. *Polar Biology*. 2018. V. 41. P. 2075–2089.
<https://doi.org/10.1007/s00300-018-2347-9>
- Index Fungorum CABI Bioscience Database. <https://www.indexfungorum.org/>. Accessed 25.03.2023.
- Joosten H., Tanneberger F., Moen A.* Mires and peatlands of Europe. Status, distribution and conservation. Schweizerbart Science Publisher, Stuttgart, 2017.
- Khabibullina F.M.* Soil mycobiota of natural and anthropogenically disturbed ecosystems of the North-East of the European part of Russia. Abstract of Dr. Biol. Thesis. Syktyvkar, 2009. (In Russ.).
- Khabibullina F.M., Kuznetsova E.G., Vaseneva I.Z.* Micromycetes in podzolic and bog-podzolic soils in the middle taiga subzone of northeastern European Russia. *Eurasian Soil Sci*. 2014. V. 47. P. 1027–1032.
<https://doi.org/10.1134/S1064229314100044.pdf>
- Kirtsideli I.Yu.* Soil microfungi of the Barents sea coast (near Varandey settlement). *Novosti sistematiki nizshikh rasteniy*. 2009. V. 43. P. 113–121. (In Russ.).
- Kirtsideli I.Yu.* Microscopic fungi in the soils of Hays Island (Franz Josef Land). *Novosti sistematiki nizshikh rasteniy*. 2015. V. 49. P. 151–160. (In Russ.).
- Kirtsideli I.Yu.* Microscopic fungi in soils and earths of arctic mountain systems. *Biosfera*. 2016. V. 8 (1). P. 63–68. (In Russ.).
- Kirtsideli I.Yu., Tomilin B.A.* Soil micromycetes from Northern Land Archipelago. *Mikologiya i fitopatologiya*. 1997. V. 31 (6). P. 1–6. (In Russ.).
- Kirtsideli I.Yu., Vlasov D.Yu., Barantsevich E.P. et al.* Microfungi from soil of polar island Izvestia TSIK (Kara sea). *Mikologiya i fitopatologiya*. 2014. V. 48 (6). P. 365–371. (In Russ.).
- Kochkina G.A., Ivanushkina N.E., Ozerskaya S.M.* Structure of mycobiota of permafrost. *Mikologiya segodnya*. 2011. V. 2. P. 178–184. (In Russ.).
- Kurakov A.V.* Methods for isolation and characterization of complexes of microscopic fungi in terrestrial ecosystems. Maks Press, Moscow, 2001. (In Russ.).
- Lapteva E.M., Kovaleva V.A., Vinogradova Yu.A. et al.* Micromycetes in peatsoils of palsamires in the forest – tundra zone. *Vestnik Instituta Biologii*. 2017. V. 3. P. 30–36. (In Russ.).
- Magurran E.* Ecological diversity and its measurement. Mir, Moscow, 1992. (In Russ.).
- Methods of soil microbiology and biochemistry. Moscow, 1991. (In Russ.).
- Novakovskiy A.B.* The interaction between Excel and the statistical package R for data processing in ecology. *Vestnik Instituta Biologii*. 2016. V. 3. P. 26–33. (In Russ.).
- Ozerskaya S.M., Kochkina G.A., Ivanushkina N.E. et al.* The structure of micromycete complexes in permafrost and cryopegs of the Arctic. *Mikrobiologiya*. 2008. V. 77 (4). P. 482–489. (In Russ.).
- Pastukhov A.V.* Forecast of changes in soil organic carbon stocks under a moderate climatic scenario in the north of European Russia. *Cryosph. Earth*. 2016. V. 20 (4). P. 28–36. (In Russ.).
- Pastukhov A., Kovaleva V., Kaverin D.* Microbial community structure in ancient European Arctic peatlands. *Plants*. 2022. V. 11 (20). P. 2704–2714.
<https://doi.org/10.3390/plants11202704>
- Pitt J.* A laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth scientific and industrial research organization. N.S.W., 1991.
- Ramirez C.* Manual and atlas of the *Penicillia* Elsevier Bio-medical Press, Amsterdam; N.Y.; Oxf., 1982.
- Schneider J., Jungkunst H.F., Ťupek B. et al.* Methane emissions from paludified boreal soils in European Russia as measured and modeled. *Ecosystems*. 2018. V. 21. P. 827–838.
<https://doi.org/10.1007/s10021-017-0188-y>
- Shcherbakova V.A., Kochkina G.A., Ivanushkina N.E. et al.* Growth of the fungus *Geomyces pannorum* under anaerobiosis. *Microbiology*. 2010. V. 79 (6). P. 845–848. (In Russ.).
- Sigler R., Gibas C.F.C.* Utility of a cultural method for identification of the ericoid mycobiont *Oidodendron maius* confirmed by IST sequence analysis. *Stud. Mycol*. 2005. V. 53. P. 63–74.
<https://doi.org/10.3114/sim.53.1.63>
- Sizonenko T.A., Khabibullina F.M., Zagirova S.V.* Soil microbiota of meso-oligotrophic peatland of middle taiga. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2016. V. 50 (2). P. 115–123. (In Russ.).
- Strack M., Waddington J.M., Tuittila E.S.* Effect of water table drawdown on northern peatland methane dynamics: implications for climate change. *Global Biogeochem. Cycles*. 2004. V. 18. P. 1–7.
<https://doi.org/10.1029/2003GB002209>
- Summerbell R.C.* Root endophyte and mycorrhizosphere fungi of black spruce, *Picea mariana*, in a boreal forest habitat:

- influence of site factors on fungal distributions. *Stud. Mycol.* 2005. V. 53. P. 121–145.
<http://dx.doi.org/10.3114/sim.53.1.121>
- Thormann M.N. Diversity and function of fungi in peatlands: a carbon cycling perspective. *Can. J. Soil Sci.* 2006a. V. 86. P. 281–293.
<https://doi.org/10.4141/S05-082>
- Thormann M.N. The role of fungi in boreal peatlands. *Ecol. Studies.* 2006b. V. 188. P. 101–123.
http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9_6
- Thormann M.N., Currah R.S., Bayley S.E. Microfungi isolated from *Sphagnum fuscum* from a southern boreal bog in Alberta, Canada. *Bryologist.* 2001. V. 104. P. 548–559.
[https://doi.org/10.1639/0007-2745\(2001\)104\[0548:mifsff\]2.0.CO;2!!](https://doi.org/10.1639/0007-2745(2001)104[0548:mifsff]2.0.CO;2!!)
- Thormann M.N., Currah R.S., Bayley S.E. The relative ability of fungi from *Sphagnum fuscum* to decompose selected carbon substrates. *Can. J. Microbiol.* 2002. V. 48. P. 204–211.
<https://doi.org/10.1023/A:1022845604385>
- Thormann M.N., Currah R.S., Bayley S.E. Patterns of distribution of microfungi in decomposing bog and fen plants. *Can. J. Bot.* 2004. V. 82. P. 710–720.
<https://doi.org/10.1139/b04-025>
- Thormann M.N., Rice A.V. Fungi from peatlands. *Fungal Diversity.* 2007. V. 24. P. 241–299.
https://doi.org/228500383_Fungi_from_peatlands
- Turunen J., Tomppo E., Tolonen K. Estimating carbon accumulation rate of undrained mires in Finland – application to boreal and subarctic regions. *The Holocene.* 2002. V. 12. P. 69–80.
<https://doi.org/10.1191/0959683602hl522rp>
- Vinogradova Yu.A., Kovaleva V.A., Perminova E.M. et al. Zonal patterns of changes in the taxonomic composition of culturable microfungi isolated from permafrost peatlands of the European Northeast. *Diversity.* 2023. V. 15 (5). P. 639–650.
<http://dx.doi.org/10.3390/d15050639>
- Vinogradova Yu.A., Lapteva E.M., Kovaleva V.A. et al. Biomass of fungi and diversity of cultivated micromycetes in the seasonally thawed layer of hummocky peatlands of the southern tundra. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2021. V. 55 (2). P. 105–118. (In Russ.).
- Vinogradova Yu.A., Lapteva E.M., Kovaleva V.A., Perminova E.M. Profile distribution pattern of microfungi in the permafrost-affected peatland of forest-tundra. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2019. V. 53 (6). P. 342–353. (In Russ.).
- Vitt D.H., Halsey L.A., Bauer I.E. Spatial and temporal trends in carbon storage of peatlands of continental western Canada through the Holocene. *Can. J. Earth Sciences.* 2000. V. 37. P. 683–693.
<https://doi.org/10.1139/e99-097>
- Александрова А.В., Великанов Л.Л., Сидорова И.И. (Alexandrova et al.) Ключ для определения видов рода *Trichoderma* // Микология и фитопатология. 2006. Т. 40. № 6. С. 457–468.
- Виноградова Ю.А., Лантева Е.М., Ковалева В.А. и др. (Vinogradova et al.) Распределение микроскопических грибов в многолетнемерзлых торфяниках лесотундры // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 6. С. 342–353.
- Виноградова Ю.А., Лантева Е.М., Ковалева В.А. и др. (Vinogradova et al.) Биомасса грибов и разнообразие культивируемых микромицетов в сезонноталом слое бугристых торфяников южной тундры // Микология и фитопатология. 2021. Т. 55. № 2. С. 105–118.
- Головченко А.В., Семенова Т.А., Полякова А.В. и др. (Golovchenko et al.) Структура микромицетного комплекса олиготрофных тофяников южно-таежной подзоны Западной Сибири // Микробиология. 2002. Т. 71. № 5. С. 667–674.
- Гончарова Н.Н., Лантева Е.М., Денева С.В. и др. (Goncharova et al.) Особенности формирования бугристых болот в горных ландшафтах Приполярного Урала // Мат-лы между. полевого симпозиума “Болотные экосистемы Северо-Востока Европы и проблемы экологической реставрации в зоне многолетней мерзлоты”. Сыктывкар, 2017. С. 58–65.
- Гришкан И.Б. (Grishkan) Микобиота и биологическая активность почв верховий Колымы. Владивосток: Дальнаука, 1997. 136 с.
- Грум-Гржимайло О.А., Биланенко Е.Н. (Grum-Grzhimailo, Bilanenko) Микроскопические грибы как компонент экосистемы верховых болот // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44. № 6. С. 485–494.
- Грум-Гржимайло О.А., Биланенко Е.Н. (Grum-Grzhimailo, Bilanenko) Комплексы микромицетов верховых болот побережья Кандакшского залива белого моря // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. № 5. С. 297–305.
- Егорова Л.Н. (Egorova) Почвенные грибы Дальнего Востока: Гифомицеты. Л.: Наука, 1986. 207 с.
- Кирицели И.Ю. (Kirtsideli) Почвенные микроскопические грибы прибрежного района Баренцева моря (окрестности поселка Варандей) // Новости систематики низших растений. 2009. Т. 43. С. 113–121.
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П. и др. (Kirtsideli 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. (Kirtsideli) Микроскопические грибы в почвах острова Хейса (Земля Франца Иосифа // Новости систематики низших растений. 2015. Т. 49. С. 151–160.
- Кирицели И.Ю. (Kirtsideli) Микроскопические грибы в почвах и грунтах арктических горных систем // Биосфера. 2016. Т. 8. № 1. С. 63–78.
- Кирицели И.Ю., Томилин Б.А. (Kirtsideli, Tomilin) Почвенные микромицеты архипелага Северная Земля // Микология и фитопатология. 1997. Т. 31. № 6. С. 1–6.
- Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Озерская С.М. (Kochkina et al.) Структура микобиоты многолетней мерзлоты //

- Микология сегодня. Т. 2. Национальная академия микологии. М., 2011. С. 178–186.
- Кураков А.В. (Kurakov) Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем: учебно-методическое пособие. М.: Макс Пресс, 2001. 92 с.
- Лаптева Е.М., Ковалева В.А., Виноградова Ю.А. и др. (Lapteva et al.) Микроскопические грибы в мерзлотных торфяных почвах бугристых болот лесотундры // Вестник ИБ Коми НЦ УрО РАН. 2017. № 3. С. 30–36.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии (Methods) / под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 304 с.
- Мэггарран Э. (Magurran) Экологическое разнообразие и его измерение. Москва: Мир, 1992. 161 с.
- Новаковский А.Б. (Novakovskiy) Взаимодействие Excel и статистического пакета R для обработки данных в экологии // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. 2016. № 3. С. 26–33.
- Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е. и др. (Ozerskaya et al.) Структура комплексов микромицетов в многолетнемерзлых грунтах и криопэгах Арктики // Микробиология. 2008. Т. 77. № 4. С. 542–550.
- Пастухов А.В. (Pastukhov) Прогноз изменения запасов почвенного органического углерода при умеренном климатическом сценарии на севере Европейской России // Криосфера Земли. 2016. Т. 20. № 4. С. 28–36.
- Сизоненко Т.А., Хабибуллина Ф.М., Загирова С.В. (Sizonenko et al.) Почвенная микробиота мезо-олиготрофного болота средней тайги // Микология и фитопатология. 2016. Т. 50. № 2. С. 115–123.
- Хабибуллина Ф.М. (Khabibullina) Микобиота почв естественных и антропогенно нарушенных экосистем Северо-Востока Европейской части России. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. Сыктывкар, 2009. 45 с.
- Щербакова В.А., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е. и др. (Shcherbakova et al.) Исследование роста грибов *Geomyces pannorum* в условиях анаэробнозиса // Микробиология. 2010. Т. 79. № 6. С. 845–848.

Complexes of Cultivated Microfungi from Peatlands in the Mountain Landscapes of the Sub-Polar Urals

V. A. Kovaleva^{a,#}, Yu. A. Vinogradova^{a,##}, E. M. Lapteva^{a,###}, C. V. Deneva^{a,####},
and E. M. Perminova^{a,#####}

^a Institute of Biology of Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

[#]e-mail: kovaleva@ib.komisc.ru

^{##}e-mail: vinogradova@ib.komisc.ru

^{###}e-mail: lapteva@ib.komisc.ru

^{####}e-mail: denewa@rambler.ru

^{#####}e-mail: perminova@ib.komisc.ru

The study concerned the abundance and species composition of cultivated microfungi from peat soils and hollows of flat-palsa bogs in the mountain landscapes of the sub-Polar Urals (the northern part of National Park Yugyd Va). The number of fungi in the studied peat soils varied from 0.4 to 242 thousand CFUs/g a.d.s. with maximum values in the upper layer of live mosses of Bog I – 242±66.2 thousand CFUs/g a.d.s.. In the bog hollows, the abundance of micromycetes had relatively low values, in hollow of Bog I – 28.6±7.1 thousand CFUs/g a.d.s., in hollow of Bog II – 32.9±25.5 thousand CFUs/g a.d.s. The taxonomic list of cultivated micromycetes included 61 species of fungi from 15 genera, two divisions and *Mycelia sterilia*. The *Mucoromycota* division was represented by 17 species from the genera *Absidia*, *Actinomucor*, *Mucor*, *Mortierella*, and *Umbelopsis*. The majority of cultivated fungi belonged to the division *Ascomycota* (43 species from 10 genera). The genus *Penicillium* dominates by species number (21 species). Reasoning from the frequency of occurrence, the structure of the complex of microfungi included rare and random species by 53%. The share of frequent and dominant fungi accounted for 34 and 13%, respectively. The dominating group consisted of *Pseudogymnoascus pannorum* and sterile mycelium. Frequent species were *Mortierella alpina*, *Mucor hiemalis*, *Umbelopsis ramanniana*, *U. vinacea*, *Penicillium canescens*, *P. granulatum*, *P. lividum*, *P. simplicissimum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. verrucosum*, *Talaromyces funiculosus*. Most abundant in the layer of live mosses were *Penicillium spinulosum* (17%), *P. thomii* (18%), *Talaromyces funiculosus* (19%). In the seasonally thawed peat layers, the following species were highly abundant as *Pseudogymnoascus pannorum* (11%), *Talaromyces funiculosus* (14%), and sterile mycelium (16%). In the gley soil horizons, *Pseudogymnoascus pannorum* (78%) dominated by abundance. Only single colonies of sterile mycelium were found in frozen peat layers.

Keywords: microscopic fungi, palsa bogs, peatlands, sub-Polar Urals

MOLECULAR IDENTIFICATION OF WOOD-DECAYING FUNGI OF *ARMILLARIA* GENUS WIDESPREAD IN EASTERN SIBERIA AND THE FAR EAST OF RUSSIA USING ITS, IGS-1-1 AND *TEF-1A* GENETIC MARKERS

© 2024 A. I. Kolesnikova^{1,*}, I. N. Pavlov^{2,3,**}, Y. A. Litovka^{2,3,***}, N. V. Oreshkova^{1,2,5,****},
A. A. Timofeev^{1,*****}, E. A. Litvinova^{1,*****}, S. M. Petrenko^{1,*****},
and K. V. Krutovsky^{4,5,6,7,*****}

¹ Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”,
Krasnoyarsk, Russia

² V.N. Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia

³ Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, Krasnoyarsk, Russia

⁴ Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

⁵ G.F. Morozov Voronezh State University of Forestry and Technologies, Voronezh, Russia

⁶ Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany

⁷ N.I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*e-mail: kolesnikova.denovo@gmail.com

**e-mail: forester24@mail.ru

***e-mail: litovkajul@rambler.ru

****e-mail: oreshkova@ksc.krasn.ru

*****e-mail: timofeyev95@gmail.com

*****e-mail: litvinovaek22@ya.ru

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

*****e-mail: konstantin.krutovsky@forst.uni-goettingen.de

Received 29 October, 2022; revised 23 August, 2023; accepted 28 December, 2023

The genus *Armillaria* is an essential component of forest ecosystems playing very important ecological role in dead wood decomposition, but it often becomes a serious pathogen causing white root rot in trees. It is also known that *Armillaria* species significantly differ in the level of pathogenicity. Thus, accurate identification of *Armillaria* is critical for assessing the risk of tree disease. In this study we analyzed 28 *Armillaria* isolates from Siberia and the Far East using nucleotide sequences of ITS, IGS-1-1 and *TEF-1a* gene regions and generated phylogenetic trees based on maximum likelihood method. In total, four *Armillaria* species were identified: *A. borealis*, *A. cepistipes*, *A. ostoyae* and *A. gallica*. *A. borealis* was the most frequent among collected isolates (18 out of 28 isolates). *A. gallica*, *A. cepistipes* and *A. ostoyae* were much less frequent with two, five and three isolates out of 28, respectively. The distribution of *Armillaria* species in Siberia and the Far East was described for the first time. It is concluded that further studies are necessary to determine the role of *Armillaria* in trees pathological dieback, and *A. borealis* should be a key focus.

Ключевые слова: *Armillaria*, Basidiomycota, Far East, IGS, ITS, phylogeny, Siberia, taxonomy, *TEF-1a*, white root rot

DOI: 10.31857/S0026364824030052, **EDN:** viyanf

INTRODUCTION

Armillaria (Fr.) Staude is widespread in both hemispheres with more than 40 well-described species recorded worldwide that play a significant role in the dynamics of forest ecosystems (Shaw, Kile, 1991; He et al., 2019).

Species diversity and wide geographical distribution of this genus are likely promoted by a combination of several features such as high environmental plasticity (Guillaumin et al., 1993), use of both saprotrophic and parasitic ecological strategies (Cruickshank et al., 2011) and effective

spreading through both rhizomorphs and root contacts (Rishbeth, 1985).

Armillaria can infect a wide range of plant hosts and causes loss of crops, urban areas and forests. Moreover, the level of virulence, rhizomorph production and host preferences also varies among species (Morrison, 2004; Prospero et al., 2004). For example, *A. ostoyae* is known as aggressive pathogen and produces abundant rhizomorphs, but thinner than those of *A. gallica* and *A. cepistipes* and mainly inhabits conifer trees (Wahlström, Johansson, 1992; Guillaumin et al., 1993). *A. borealis* parasites on both coniferous and deciduous trees, and produces rhizomorphs faster than *A. ostoyae*, but its virulence level varies (Guillaumin et al., 1993; Lushaj et al., 2010; Heinzelmann et al., 2016). *A. gallica* and *A. cepistipes* have weaker pathogenicity than *A. ostoyae* and *A. borealis* and act mostly as saprotrophs on deciduous trees, their main hosts (Rishbeth, 1982; Guillaumin et al., 1993; Baumgartner et al., 2011; Lushaj et al., 2010). *A. cepistipes* is capable of producing abundant rhizomorph networks (Rishbeth, 1985), which are helpful for new substrates exploration.

It has been shown that several *Armillaria* species can coexist in the same forest stand, predominantly saprotrophic together with parasitic species. For example, *A. cepistipes* or *A. sinapina* often occur with *A. ostoyae*, and *A. mellea* with *A. gallica*, reflecting the development of different ecological strategies due to competition for the same substrates (Cruickshank et al., 2011; Dettman, Kamp, 2011; Mesanza et al., 2017).

In recent years, DNA sequence data have been increasingly used for fungal species identification (Cai et al., 2011). The first studies were carried out with the use of nucleotide sequences of the intergenic spacer 1 (IGS-1-1) located between the 28S and 5S rRNA genes and internal transcribed spacer (ITS) located between the 18S and 28S rRNA genes (Harrington, Wingfield, 1995; Kim et al., 2000). Then, the *TEF-1α* gene was used for phylogenetic analysis of *Armillaria* and gave a better separation of closely related species (Shaw, Kile, 1991; Wahlström, Johansson, 1992; Maphosa et al., 2006). Today, multilocus phylogenies replace monogenic ones since they describe the evolutionary history of the species more precisely (Tsykun et al., 2013).

According to phylogenetic studies the genus *Armillaria* belongs to the *Agaricales* order of the *Basidiomycota* division, in which it is placed in the *Physalacriaceae* family together with other genera (Collins et al., 2013; He et al., 2019). Recent phylogenomic analysis based on 835 conserved genes showed that *Guyanagaster* and *Cylindrobasidium* are the most phylogenetically close genera to *Armillaria* (Sipos et al., 2017), and it was discovered that the separation of the *Armillaria* and *Guyanagaster* occurred about 40–50 million years ago (Koch et al., 2017; Sipos et al., 2017).

In this study, we collected samples of *Armillaria* in Eastern Siberia and Far East (Russia) and analyzed them using sequences of three DNA regions – ITS, IGS-1-1 and *TEF-1α*. The distribution of species helped us better understand the diversity of the phylogenetic lineages of *Armillaria* associated with forest dieback in Russia.

MATERIALS AND METHODS

Sampling sites and symptoms of infection. In total, 28 pure culture samples isolated from wood, fruitbodies (basidioma, basidiocarp) and basidiospores of *Armillaria* with different levels of pathogenicity and growing conditions were collected from both coniferous and deciduous trees in Siberia and Far East. The sampling sites included forest dieback of the southern taiga and Siberian forest steppe, mountain taiga forests of the Western and Eastern Sayan Mountains, Kuznetsk Alatau and Sikhote-Alin Mountains and were visited in the period of 2000–2020 once in every 1–3 years.

The forest area of pathological dieback varied from 0.1 to 30 ha. Trees of all sizes and ages including 50–260-year-old trees were affected by the dieback. *Pinus sibirica* Du Tour, *Abies sibirica* Ledeb. and *Abies nephrolepis* (Trautv. ex Maxim.) Maxim. were more susceptible to dieback than other species. Unlike *Heterobasidion annosum* s.l., dieback of conifers due to *Armillaria* often happened very quickly without any prior noticeable weakening (Fig. 1).

Death of trees with well-developed crown that did not express any signs of oppression happened very quickly. Lifespan of their needles, tree size, and growth of shoots did not differ from the average values for the forest stand. The hypothesis is that the fungus can parasitize on the roots for a long time (as evidenced by numerous excavations of root systems). However, with a decrease in the defensive ability of the tree and the penetration of the mycelium into



Fig. 1. Dieback of conifer trees due to *Armillaria*.

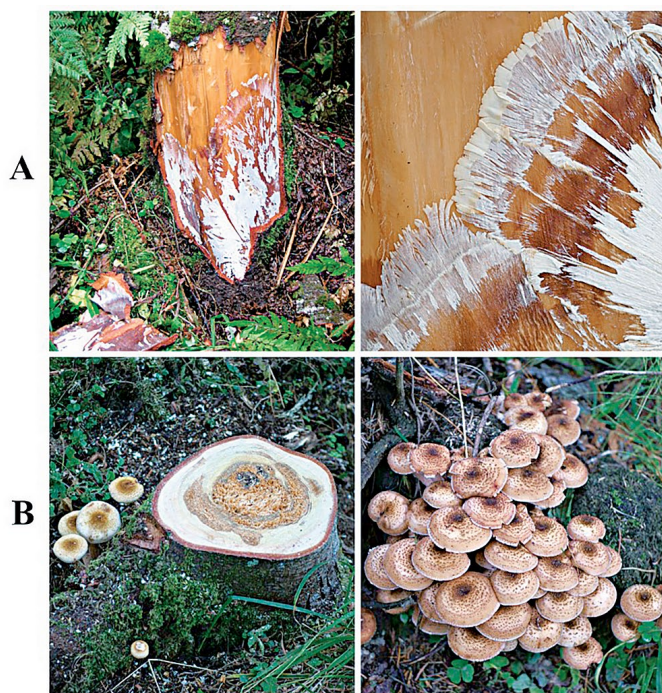


Fig. 2. Typical signs of the pathogenic action of *Armillaria borealis*: A – spread of fungal mycelium under the bark of *Abies sibirica*; B – fruiting bodies and the decay caused by *Armillaria borealis*.

the zone of the root collar, a rapid ringing of the trunk and death occurs (Fig. 2).

Colony morphology and microstructure. The morphology of the fungi was investigated in a culture on carrot agar (CA) and Norkrans medium (NM) (Norkrans, 1953) at 23 ± 1 °C for 28 days without illumination. Key indicators were pigmentation of agar nutrient medium, radial growth rate (mm per day), presence of rhizomorphs, their total number, pigmentation and length (for 14 days). Microscopic observations were made using a Nikon Eclipse Ci microscope with a photo-documentation system (Nikon, Japan) and a scanning electron microscope Hitachi SU3500 (Hitachi, Japan). Samples were prepared according to the standard protocol for fungi cultured on solid media (Alves et al., 2013).

Pathogenicity *in situ*. Pathogenic effect of *Armillaria in situ* was assessed using a three-point scale: 1 point – low pathogenicity: dying trees in the lower layer, death of individual trees without the formation of groups and rare thin mycelium on roots; 2 points – average pathogenicity: dying single trees or small groups (up to 7 trees), dominating in the upper canopy, over several years with a pronounced preliminary weakening and gradual falling of needles, well-defined mycelium on the roots, rarely rising above the root collar; 3 points – high pathogenicity: dying trees prevailing in the upper canopy, without signs of preliminary weakening; a well-defined group of dying trees (more than 7 trees); fast drying of trees (within 1 year); well-developed *Armillaria*

mycelium on the roots; the fan of the mycelium rises significantly above the root collar.

Pathogenicity *in vitro*. The inoculum of *Armillaria* strains was introduced into sterile aspen chips (10×10 mm) moistened with NM. Sterile chips were inoculated with agar blocks with pre-grown strains at the age of 21 days. The incubation period was 2 months at 23 °C in the dark, after which the chips were used for inoculation of plants. The plant test objects were 45 cm long and 38–40 mm in diameter cuttings of *Populus tremula* L. with its own roots. For each fungal strain, the number of rooted cuttings was 10. Cuttings were inoculated with colonized and sterile (control) chips at a height of 5 and 10 cm above the soil surface. The chips were inserted into the bark incisions and secured with parafilm tape. The cuttings were placed in plastic containers with pre-calcined sand and incubated for 3 months in a climatic chamber at 25 °C with bottom heating and periodic moistening of the sand with illuminance level of 5000 lx. Estimated indicators at the end of the experiment were the presence of a fan of mycelium, the presence of necrosis of the cambial zone, and the intensity of the spread of necrosis. Pathogenic effect *in vitro* was assessed on a three-point scale: 1 point – low pathogenicity: uneven spread of necrosis from the point of inoculation at a distance of up to 15 mm, mycelium is rare and poorly developed; 2 points – medium pathogenicity: uniform spread of necrosis from the point of inoculation at a distance of up to 30 mm, mycelium is dense and well developed; 3 points – high pathogenicity: uniform spread of necrosis from the point of inoculation at a distance of 30 mm or more, the presence of fusion of necrotic zones along the ring at the point of inoculation, mycelium is dense with a well-developed fan.

Isolation methods. Pure cultures of *Armillaria* spp. were isolated from fruitbodies, basidiospores and diseased wood of *Abies nephrolepis*, *Abies sibirica*, *Betula pendula* Roth, *Picea jezoensis* (Siebold et Zucc.) Carrière, *Picea obovata* Ledeb., *Pinus sibirica*, *Pinus sylvestris* L., *Populus tremula* L.) on 2% malt extract agar with 0.5% tannin (MEA + T). The pure cultures were maintained on slants of 2% (w/v) malt extract agar (MEA) medium at 6 °C. The list of Siberian and Far Eastern strains isolated in a pure culture, their hosts, geographical location and pathogenicity are presented in Supplementary Table S1 (Kolesnikova et al., 2023).

Isolation from wood. For isolation, wood with signs of necrosis was used. The wood surface was briefly sterilized in the flame of an alcohol burner, then a depression was made with a sterile scalpel on the border of healthy and necrotic tissue, and thin chips several cm long were cut out. They were placed in a sterile Petri dish, pressing the sharp edge into the MEA + T using sterile forceps. Several pieces of wood were placed in a Petri dish at a distance from each other. The dishes were incubated at 22 °C in the dark and regularly checked for fast growing microscopic fungi.

These fast growing colonies were removed together with agar medium using a sterile scalpel, while slow-growing *Armillaria* colonies were transferred from the surface of the agar medium to slants of MEA in test tubes.

Isolation from fruitbodies. The fruitbodies were carefully cleaned of plant debris and soil. The surface of the fruitbody was wiped with 96% ethanol and dried on filter paper. Then, they were cut with a sterile scalpel, the inner sterile part excised, and the fragments of the fruitbody transferred to MEA+T and incubated at 22 °C in the dark. Young growing mycelium, which appeared on the pieces of fruitbodies, was transferred to the slants of MEA in test tubes.

Isolation from basidiospores. The fruitbodies were carefully cleaned as described above and placed on sterile parchment paper with the spore-bearing layer down to obtain a spore print for 24–48 hours. Spores from a spore print were spread on the surface of 1% malt-extract agar medium and incubated 1–3 days at 24 °C. Germinated single spores were isolated using the method of Korhonen and Hintikka (1980).

DNA extraction, PCR and sequencing. DNA was isolated from pure isolate cultures using the DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Inc., Germantown, MD, USA) according to the manufacturer's instructions. DNA was stored at –20 °C until required. The IGS-1–1 region was amplified using primers 0–1 and LR12R (Harrington, Wingfield, 1995). Amplicons from the ITS region (including the ITS-1, 5.8S gene and ITS-2 regions) were obtained using primer pair ITS-1/ITS-4 (White et al., 1990). The *TEF-1α* gene was amplified using primers EF595F and EF1160R (Kausrud, Schumacher, 2001).

PCR reactions were conducted using a HotStarTaq® DNA Polymerase kit (Qiagen Inc., Manchester, UK). PCR mixtures comprised 10× PCR buffer, MgCl₂, dNTPs, primers (100 μM each), 0.2 μl HotStarTaq DNA Polymerase, 2 μl template DNA (20–100 ng) and 6.8 μl sterile MilliQ water. PCR was performed using a T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, Foster City, California, USA). The following PCR amplification protocol was used: 15 min of initial denaturation at 95 °C, 35 cycles of 1 min denaturation at 95 °C, primer annealing for 1 min at 50 °C and extension for 1 min at 72 °C, a final extension for 20 min at 72 °C was included to complete the reaction followed by the hold at 4 °C. PCR products were visualized after electrophoresis in a 1.5% agarose (Sigma, Saint Louis, Missouri, USA) gel stained with Roti – GelStain (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Germany). PCR products of the expected size were purified using innuPREP Gel Extraction Kit (AJ Innuscreen GmbH, Jena, Germany), and the amplicons of the ITS, *TEF-1α* and IGS-1 DNA loci were sequenced in both directions in 28 fungal samples using the ABI Genetic Analyzer 3130xL (Applied Biosystems, Foster City, USA) at the Department

of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, University of Göttingen (Germany).

Sequence analysis. In total, 264 DNA sequences of the ITS, *TEF-1α* and IGS-1 DNA loci (88 sequences per each locus) for *Armillaria* species were used including 84 sequences representing 28 isolates sequenced by the authors and 180 sequences downloaded from NCBI GenBank (Supplementary Table S2 in Kolesnikova et al., 2023) including *Guyanagaster necrorhizus* (*TEF-1α*: KU289108.1, ITS: KU170948.1, IGS: KU254225.1), which was used as an outgroup species to root the phylogenetic trees.

Multiple sequence alignment for each separate marker was generated using the UGENE v. 34.0 (Okonechnikov et al., 2012) with MUSCLE alignment algorithm (Edgar, 2004). Further, all three alignments were concatenated in the SeaView v. 3.2 (Gouy et al., 2010). Three individual marker multisequence alignments and an alignment concatenated for all three markers in the PHYLIP and MEGA formats are presented in Supplementary Data S1 in Kolesnikova et al. (2023).

The search for the best evolutionary models of nucleotide substitutions in alignment consisting of three markers was done using PartitionFinder2 v. 2.1.1 (Lanfear et al., 2017) based on AIC (Akaike Information Criterion) (Burnham, Anderson, 2004). Best models for individual marker alignments were determined using ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017). PartitionFinder2 divided the alignment into 3 parts: 1) *TEF1α_1*, *TEF1α_3*, 2) ITS, *TEF1α_2* and 3) IGS-1. The TRNEF + I + G model was identified as the best one for the first set (*TEF1α_1*, *TEF1α_3*), model K81UF + I + G for the second set (ITS, *TEF1α_2*) and TRN + G for IGS-1. For individual marker alignments the following best models have been identified: TNe + G4 for *TEF-1α* and HKY + F + G4 for ITS and IGS-1. The markers were checked for congruence using Concaterpillar v. 1.8a (Leigh et al., 2008). The trees were built using the IQ-TREE program v. 1.6.12 based on the maximum likelihood method (Nguyen et al., 2015). Node support was determined using ultrafast bootstrap analyses with 1000 replicates.

To search for groups of strains that likely represent the same individual was done via calculating the matrix of pairwise genetic distance using the MEGA program v. 11.0.13 (Tamura et al. 2021) and the Maximum Composite Likelihood model (Tamura et al. 2004), which is presented in Supplementary Data S2 in Kolesnikova et al. (2023).

RESULTS

Morphology

All strains of *Armillaria* were able to colonize agar culture media *in vitro*. On carrot-agar at 23 °C, most strains formed colonies with white-cream-brown color aerial

mycelium, flat, from fluffy to leathery-velvety texture. All strains of *A. ostoyae*, *A. gallica*, 80% of *A. cepistipes* strains, and 56% of *A. borealis* strains formed well-developed, highly branching white rhizomorphs, which were darkened during the aging of the culture (Fig. 3, Supplementary Table S3 in Kolesnikova et al., 2023). The number and total length of rhizomorphs (per Petri dish) varied from 10 to 45 pcs and 93–785 mm, respectively. The proportion of pigmented rhizomorphs on the 21st day of cultivation ranged from 10 to 70%. Several types of color reactions were noted near the inoculation block: brown and dark brown pigmentation of the medium (all rhizomorph-forming strains of *A. cepistipes* and *A. gallica*), discoloration (all rhizomorph-forming strains of *A. borealis*) and lack of pigmentation (all *A. ostoyae* strains; non-rhizomorphic *A. borealis* and *A. cepistipes* strains). The radial growth rate varied within 0.2–0.6 mm per day.

On NM at 23 °C, most of the studied strains formed squat colonies with a meager, poorly developed velvety-leathery aerial mycelium or white non-pigmented mycelium. Rhizomorphosis was observed in the same strains as on Carrot agar, however, the morphology of

rhizomorphs was significantly different: short, sharp, needle-like, slightly branching, darkening already on the seventh day of cultivation. The number and total length of rhizomorphs varied from 1 to 10 pcs and from 5 to 785 mm, respectively. Brown and light brown agar pigmentation was observed in all rhizomorph-forming strains *A. cepistipes*, *A. gallica*, and *A. borealis*. The radial growth rate was in the range of 0.1–0.5 mm/day, which is comparable to that on carrot agar. In single strains of *A. borealis*, the growth rate on NM was twice as lower than in carrot agar, in *A. cepistipes* strains – twice higher.

Microstructures

Observations did not reveal significant differences in micromorphology in the studied *Armillaria* isolates. Most of the strains grown on NM formed a well-developed septate mycelium. Generative hyphae were light brown, translucent, branching at an acute angle, less often at right angles, simple, moderate to medium branching. The hyphae width varied from 2 to 3.5 µm.

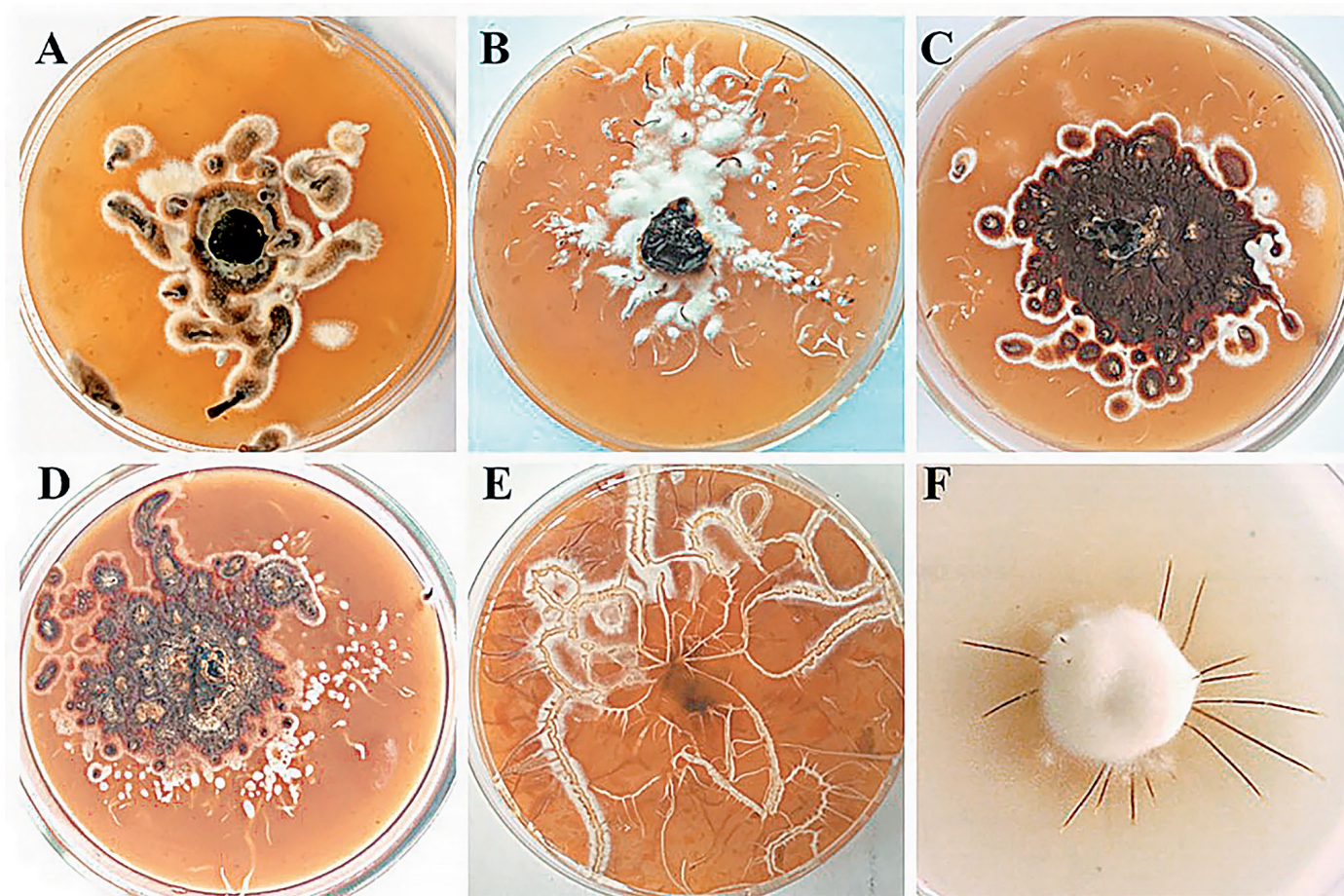


Fig. 3. Colony morphology of *Armillaria borealis* (A), *A. cepistipes* (B, E, F), *A. gallica* (C), and *A. ostoyae* (D) on carrot agar after 21 days of cultivation: colonies are squat with white-creamy-brown aerial mycelium; colony texture from fluffy to leathery velvety; on carrot agar (E) and Norkrans medium (F) *A. cepistipes* forms well-developed rhizomorphs.

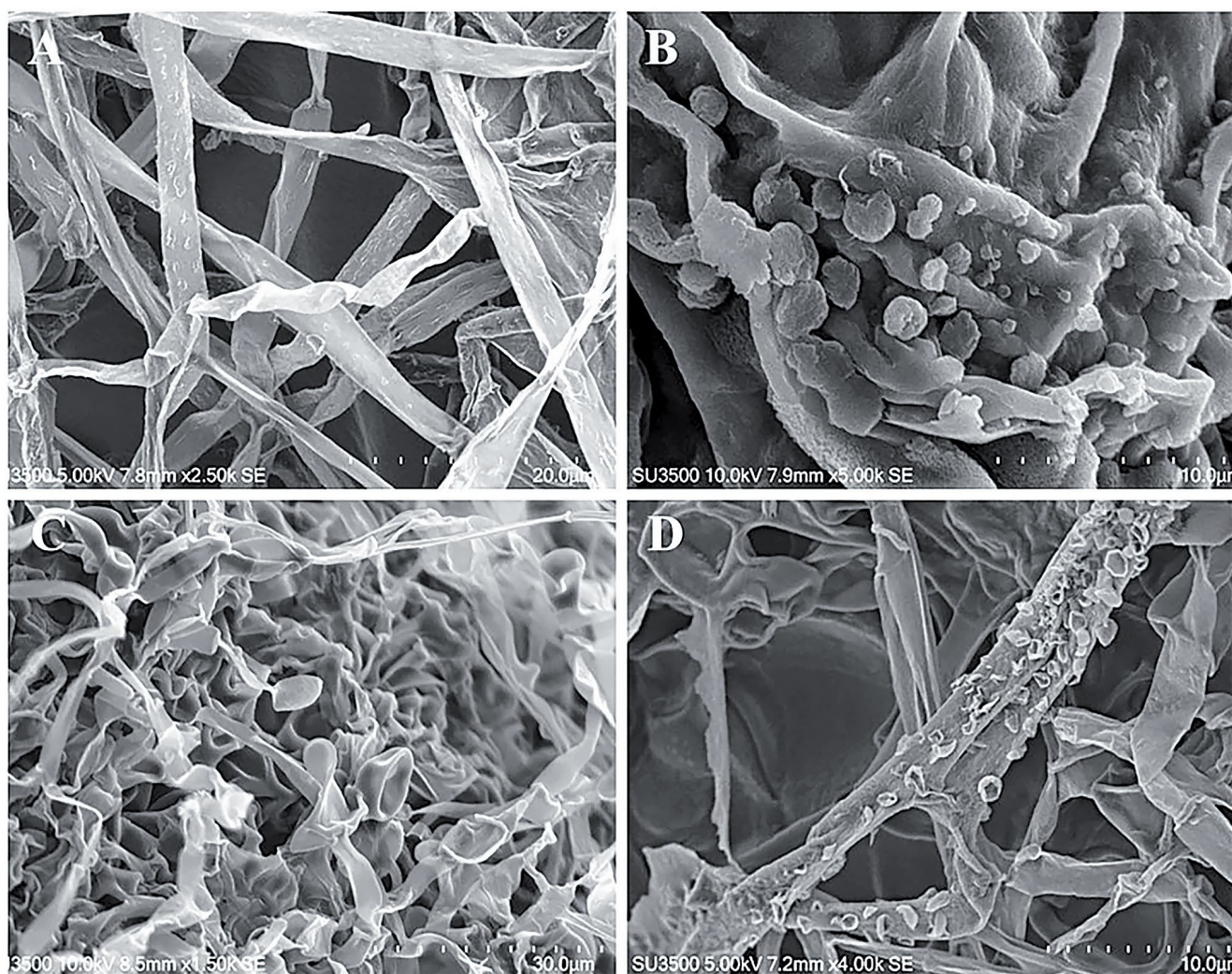


Fig. 4. Scanning electron microscopy of *Armillaria* strains ($\times 1500$ – 5000): A – vegetative hyphae of *A. borealis*; B – spherical structures on the hyphae of *A. cepistipes*; C – accumulation of thick-walled spherical cells in the old part of the *A. gallica* colony; D – encrusted hyphae of *A. ostoyae*.

On individual hyphae, spherical structures up to 3–5 μm in diameter were formed; hyphae acquired a rough surface (Fig. 4). In the old part of the mycelium, spherical swellings with a diameter from 4 to 7.5 μm were formed; voids appeared inside the hyphae and the number of anastomoses was moderate. Skeletal hyphae were formed when the culture has reached the age of 30–35 days; the color ranged from light to dark brown, without any partitions, 1.5–3.0 μm wide. In the old parts of the colony, massive clusters of spherical thick-walled hollow cells (less often ellipsoidal) with a diameter from 5 to 16 μm were formed. The cells were localized on unstained hyphae or in pigmented mycelial plexuses (rounded cells also become yellow, rusty and light brown). Swollen, colorless, thick-walled cells, not necessarily spherical, were noted in rhizomorphs. They were under the top layer of pigmented hyphae. The sizes of swollen cells varied within the range of 9.7–22 μm .

Phylogenetic identification of isolates

In total, 28 isolates of *Armillaria* collected from dying coniferous and deciduous trees with different levels of pathogenicity in Siberia (Krasnoyarsk Territory and the Republic of Khakassia) and the Far East (Sikhote-Alin), were analyzed. The analysis of the three markers in our study for congruence showed that they were not fully congruent. However, lack of congruence is common when comparing phylogenetic trees based on different individual genes (Leigh et al., 2011). It is mainly due to their incomplete gene sorting, ancient admixture, gene introgression, different evolutionary history and divergence rate (Kartavtsev, Redin, 2019). There is no a single best approach to deal with this problem, but use of several genes at the same time allows to correct this problem, and the more genes, the better (Leigh et al., 2011; Matute, Sepúlveda, 2019; Bryant, Hahn, 2020). Therefore, we used the supermatrix approach, although we are aware that this approach can

cause sometimes inconsistency of phylogenetic estimates (see references in McGowen et al., 2008 for discussion). This approach uses concatenated gene alignments, which are used then to generate a single species tree using standard phylogenetic tree reconstruction methods. This approach with the same set of marker genes that were used in our study has been and continues to be used for a very large number of species in a large number of publications, including identification of *Armillaria* species by other researchers (e.g., Tsykun et al., 2013; Denman et al., 2013).

In our study, the phylogenetic trees were based on concatenated multiple nucleotide alignments of three markers ITS, IGS-1, and *TEF1- α* . Only a few genetically identical sequences were found (highlighted in Supplementary Table S2 and Data S2 in Kolesnikova et al., 2023), and variation within species was relatively high. The isolates clustered into five major groups that corresponded to known species with high level of statistic support (Fig. 5). Five isolates formed the *A. cepistipes* group, two the *A. gallica* group, and three the *A. ostoyae* one. *A. borealis* formed two groups or clades: one large, which included 17 isolates, and a small one, which included a single isolate.

Phylogeny based only on the *TEF1- α* marker also revealed five clades (Supplementary Fig. S1 in Kolesnikova et al., 2023). Five isolates were grouped into the *A. cepistipes* clade, one – in the *A. gallica* clade, and three – in *A. ostoyae*. The species *A. borealis* again formed two or three clades: one large, which included 19 isolates (with 17 our samples), and a small one, which included three isolates (A618 from Switzerland, A1 from Finland, and our sample 399/17 collected in Southern Siberia, Krasnoyarsk Territory). The A618 from Switzerland likely represents a different lineage or clade. In addition, a mixed group was formed, which included *A. gallica* and *A. mellea* strains from the NCBI GenBank database.

Phylogeny based only on the ITS marker revealed three mixed clades (Supplementary Fig. S2 in Kolesnikova et al., 2023) with six isolates clustered in the clade *A. cepistipes/A. sinapina*, two – in *A. cepistipes/A. sinapina/A. gallica*, and 20 – in *A. ostoyae/A. borealis*.

Phylogeny based only on the IGS-1 marker revealed two mixed clades (Supplementary Fig. S3 in Kolesnikova et al., 2023): 21 isolates clustered in the mixed clade *A. ostoyae/A. borealis*, and seven – in *A. cepistipes/A. gallica/A. sinapina/A. nabsnona*.

Prevalence and distribution of isolates and species

Based on phylogenetic analysis, four species were identified in total: *A. borealis*, *A. gallica*, *A. ostoyae* and *A. cepistipes*. *A. borealis* and *A. cepistipes* occurred on the Krasnoyarsk Territory, *A. borealis*, *A. cepistipes* and *A. gallica* – on the territory of the Republic of Khakassia (Fig. 6),

while *A. ostoyae*, *A. gallica* and *A. cepistipes* – on the territory of the Far East (Fig. 7).

The groups of isolates that likely represent the same strain or possibly individuals for samples collected in the same place were also identified for two samples of *A. tabescens* collected in Japan: 2006-20-01 (Kanagawa, Japan) and 96_3_3 (Tokyo, Japan), two samples of *A. mellea* also collected in Japan: 94-10-1 (Gunma, Japan) and A_10 (Tokyo, Japan), three samples of *A. borealis*: one collected in Germany, A5 and two in Southern Siberia, Khakassia, 73/8 (20) and 111 (18), three samples of *A. borealis*: one collected in Far East, Sikhote-Alin, 27D (21) and two in Central Siberia, Krasnoyarsk Territory, D48 (04) and S16 (06), and four samples of *A. borealis*: three collected in Far East, Sikhote-Alin 19D (26), 26D (27), 40D-2 (23) and one in Southern Siberia, the Republic of Khakassia, 22/12 (25) (see Supplementary Table S2 and absolutely identical samples with zero genetic distance between each other based on all three markers in Supplementary Data S2).

Pathogenicity

The pathogenicity of the studied *Armillaria* strains *in situ* varied from low to high. The maximum level was noted for the Far Eastern *A. ostoyae* strains (3 points; drying area from 4.8 to 16 ha) and Siberian strains of *A. borealis* (2–3 points; area of decline from 0.1 to 31.8 ha; in rare cases decline of single trees was noted). The pathogenicity of the *A. cepistipes* strains did not exceed 1 point; large-scale foci of forest decline were not found.

The pathogenicity of *Armillaria* strains *in vitro* was also heterogeneous. The data obtained were consistent with *in situ* observations. The strains of *A. ostoyae* and *A. borealis* showed the maximum level of pathogenicity (2–3 points). A significant advance of the mycelium fan along the *Populus tremula* wood from the point of inoculation (12–45 mm) and a high degree of cambium necrosis (35–75 mm) were noted. Cases of merging of necrotic zones that created large areas of damage along the growing ring were noted on the cuttings (Fig. 8).

Armillaria ostoyae was found only in the area of trees with aerial dieback dominating in the upper canopy with pronounced groups of drying trees and without any signs of preliminary weakening. A rapid dying trees (within a year) and the presence of a high-rising fan of mycelium were observed. *A. cepistipes* was found only in area of dying trees in the lower layer; the death of individual trees did not form groups; a rare and thin mycelium was found on the roots. Similar to *A. cepistipes*, *A. gallica* was isolated from trees with aerial dieback in the lower layer with a rare thin mycelium on the roots, or in area with the single dying trees with preliminary weakening and pronounced mycelium on the roots. *A. borealis* was found both on trees with mycelium on the roots, rarely rising above the root

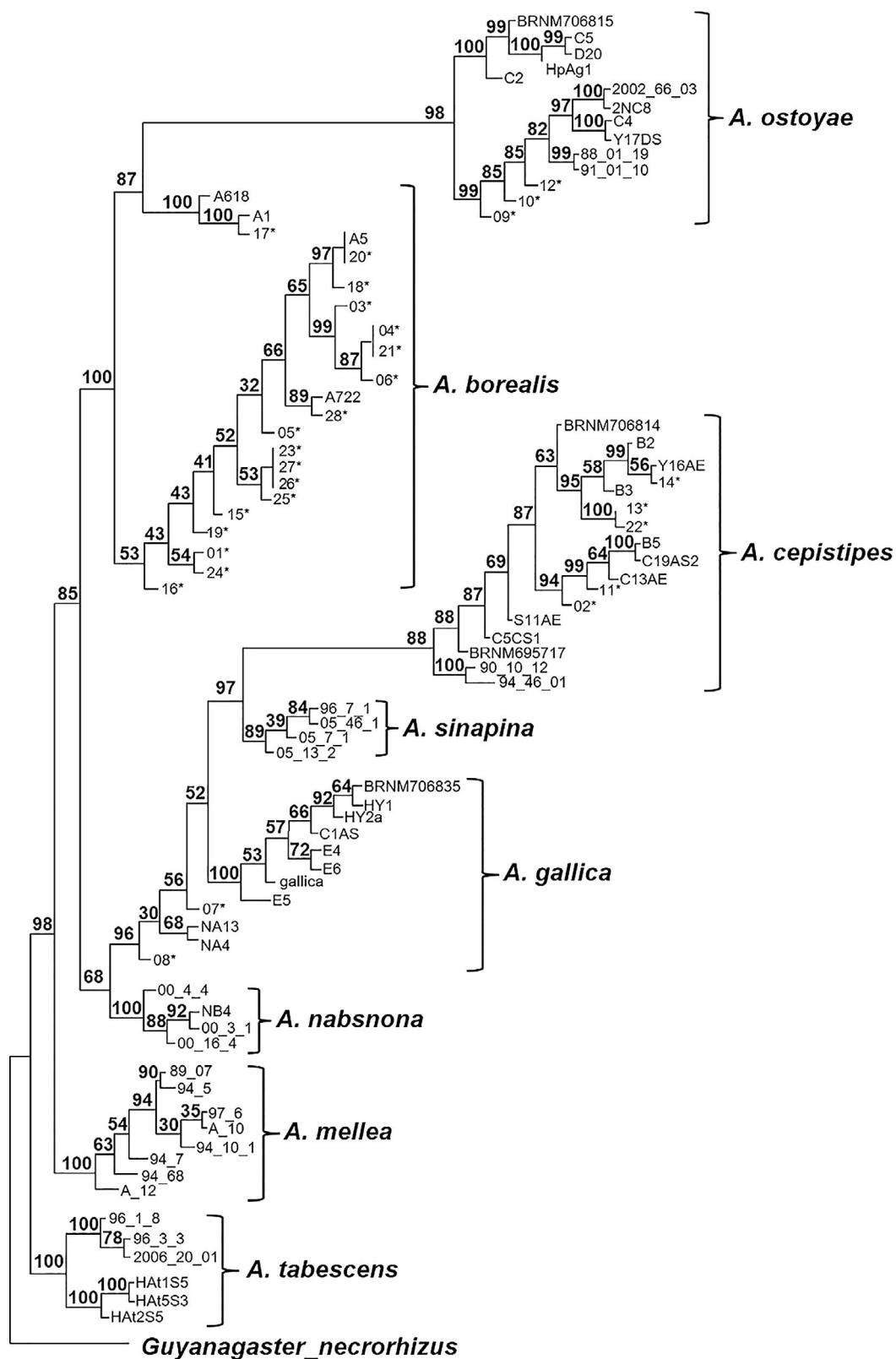


Fig. 5. Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree of 28 new *Armillaria* isolates and sequences of *Armillaria* species from NCBI GenBank based on the 88 concatenated *TEF-1 α* , ITS and IGS-1-1 nucleotide sequence alignments (264 sequences in total). Bootstrap values are indicated above the branches next to the clusters. *Guyanagaster necrorhizus* was used as an outgroup. Isolates numbered 01–28 were sequenced by the authors and marked with asterisk (see also Supplementary Tables S1 and S2 – Kolesnikova et al., 2023).

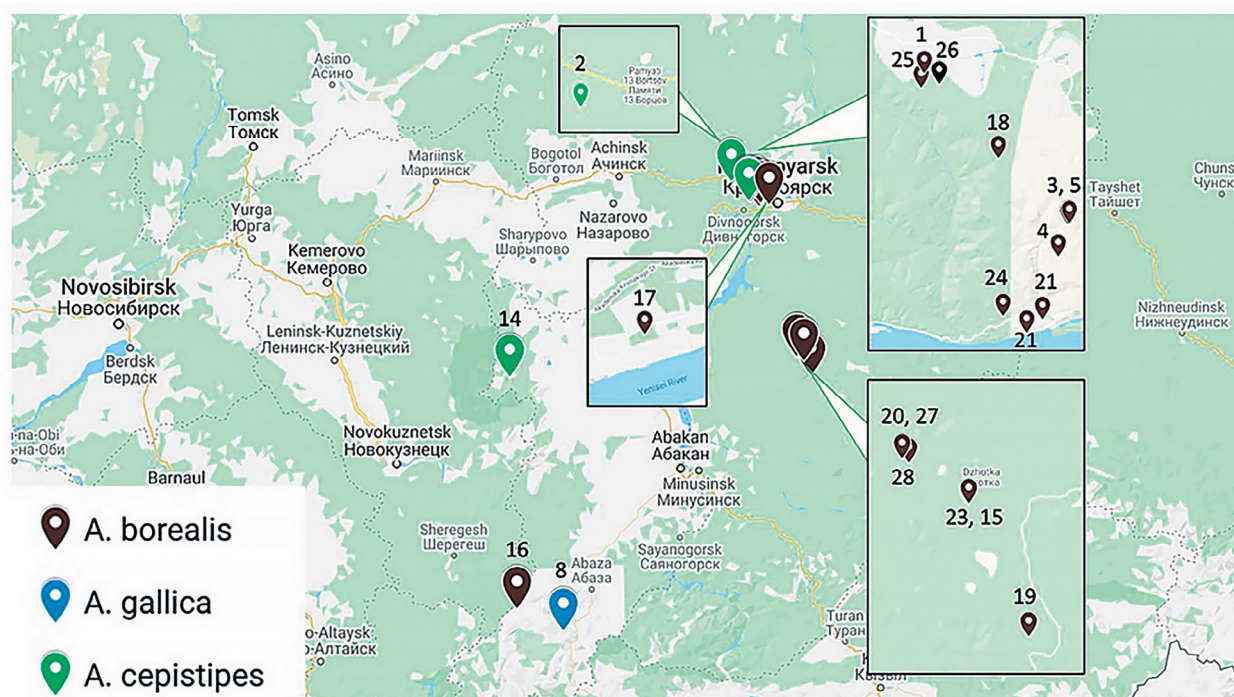


Fig. 6. Distribution of the *Armillaria* species in East Siberia.

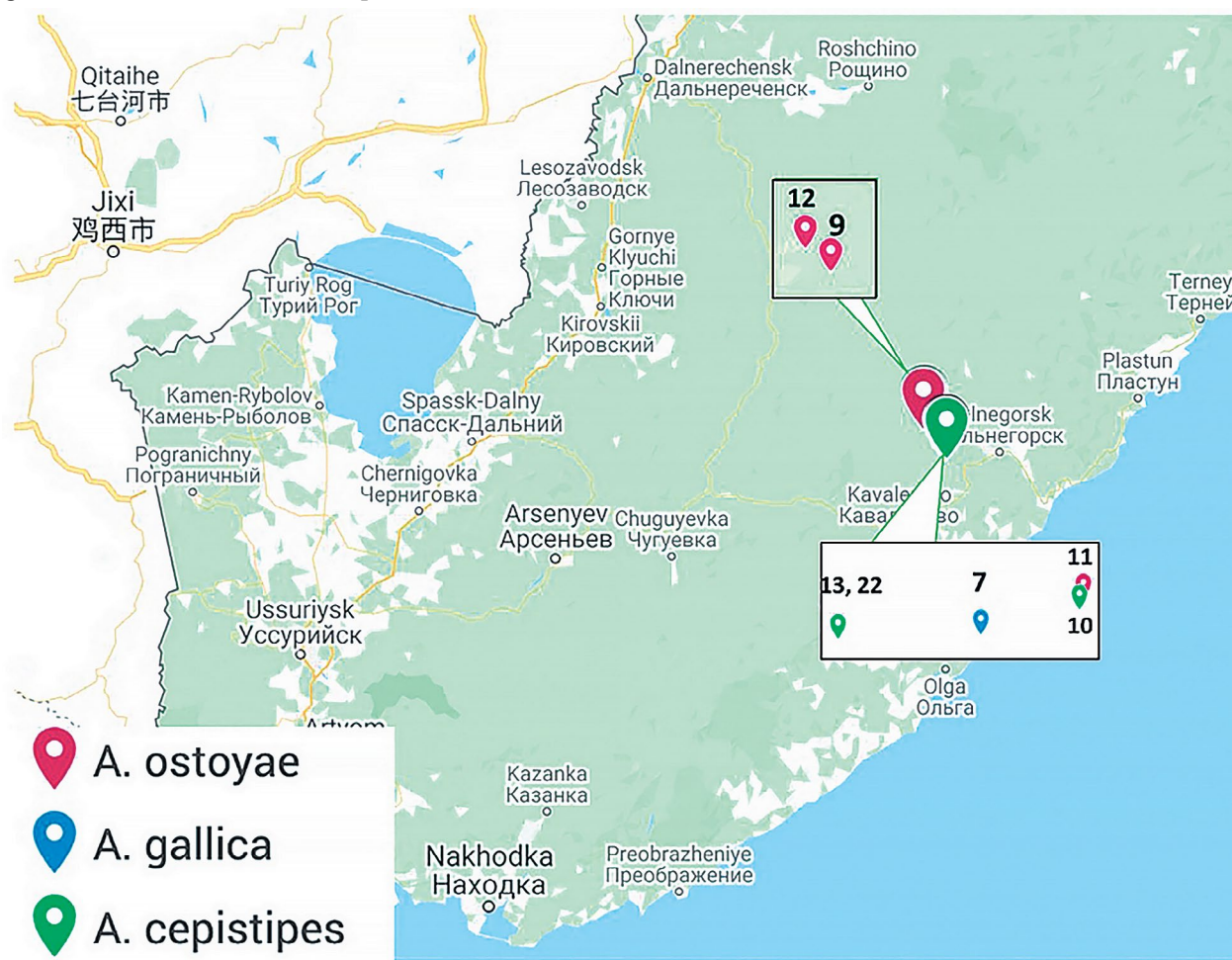


Fig. 7. Distribution of the *Armillaria* species on the Far East territory.



Fig. 8. *In vitro* spread of *Armillaria borealis* mycelium fan (strain D48) and necrosis of *Populus tremula* cambium. The movement of the mycelium fan and the presence of necrosis are shown right at the top.

collar, with a pronounced preliminary weakening as well as on trees without signs of preliminary weakening with a high-rising mycelium.

In vitro pathogenicity of *A. borealis*, depending on the strain, was 2 and 3 points, *A. cepistipes* – 1 point, *A. gallica* – 1 and 2 points, and *A. ostoyae* – 3 points.

An increase in the temperature of the near-ground air layer was characteristic for all regions of mass forest drying in Siberia (data available at <https://climexp.knmi.nl>; Pavlov, 2015). At the south of Siberia (53.70N, 91.70E, WMO station 29866, MINUSINSK), the warming trend was observed for the period 1890–2019: annual temperature of the near-ground air layer was increased on average by 2.6 °C in the period of the last 100 years, and April temperature – by 3.5 °C for the same period). A warmer winter (from 1916 to 2018 the winter temperature was increased by 4.9 °C) creates better conditions for fungus overwintering. The most intense increase in temperature was observed for the period 1970–2001 with May temperature increased by 3.6 °C on average reaching 15.5 °C in some years and promoting earlier and active growth of the mycelium of root pathogens at temperatures between 10 and 31 °C, with an optimum between 20 and 22 °C (Rishbeth, 1978). A simultaneous increase of precipitation also creates more favorable conditions for *Armillaria*.

DISCUSSION

The goal of identifying *Armillaria* isolates was achieved using a three-marker-based phylogenetic analysis. The isolates represented the species *A. borealis*, *A. gallica*, *A. ostoyae*, and *A. cepistipes*, which were previously identified in Siberia

only by morphological characteristics (Pavlov, 2015). The validity and informativeness of the markers for identification of the *Armillaria* species that we used in our study is also confirmed by the review Coetzee et al. (2018).

Phylogenetic trees based on three marker sequences well-differentiated all samples. In contrast, trees based on single marker ITS or IGS-1 produced mixed clades such as *A. ostoyae*/*A. borealis* and *A. gallica*/*A. cepistipes*/*A. sinapina*. This can be explained by the fact that *A. ostoyae* and *A. borealis* are indeed closely related species. Their similarity could be due to sharing ancestral polymorphism and hybridization between them (Anderson, Stasovski, 1992). *A. gallica*, *A. cepistipes* and *A. sinapina* are also phylogenetically closely related species and are similar morphologically (Antonín et al., 2009). The filamentous fungal taxon delimitation power of the ITS markers is comprehensively reviewed in Vu et al. (2019). Among individual markers *TEF1-α* was the most discriminatory. Previous studies have also shown that *TEF-1α* has higher variation than ITS and IGS-1 (Antonín et al., 2009; Ross-Davis et al., 2012; Tsykun et al., 2013).

It is interesting that both phylogenetic trees based on either *TEF-1α* or all three markers demonstrated two or three clades or lineages consisting of the *A. borealis* isolates. A similar phenomenon has been observed in other studies where these two clades did not have any geographical connections (Guo et al., 2016; Klopfenstein et al., 2017). This is also in agreement with Antonín et al. (2009), according to which *A. borealis* splits into two clades based on the sequences of the same *TEF-1α* marker (see Fig. 5 there). However, they used only three samples of supposedly *A. borealis* – one from the Czech Republic formed a clade together with *A. ostoyae* and *A. gemina*, and the other two from Finland and Germany, respectively, formed another clade. Moreover, a phylogenetic tree based on a single marker is probably not sufficient for species identification, unlike our tree based on three markers.

We additionally blasted the ITS sequence of the type specimen of *A. borealis* Marxm. et Korhonen collected in Finland (the NCBI GenBank accession NR_159624, which is identical to the NCBI GenBank accession MH861561.1 and is listed in Supplementary Table S2.xlsx; Kolesnikova et al., 2023) with our samples, and the best matching was with samples of a large clade, starting with S16/06 (MW418555) from Central Siberia, Krasnoyarsk Territory, and then 111/18 (MW418547) from Southern Siberia, Khakassia, 396d/16 (MW418559) and 108d/15 (MW418558) from Southern Siberia, Krasnoyarsk Territory, R1-2/10 (MW418552), R1-1/9 (MW418537), 36/8 (MW418536), 206g/11 (MW418548) and D47/3 (MW418556) from Central Siberia, Krasnoyarsk Territory.

In our study, both clades of *A. borealis* also have mixed geography and contain both European and Asian strains.

This suggests that *A. borealis* can be represented by two different phylogenetic lineages, or that *A. borealis* has two lineages of the *TEF-1 α* gene, which appear as distinct clusters in phylogenetic trees (Antonín et al. 2009; Mulholland et al., 2012).

A. borealis was found to be the most common species. It was found both on trees with mycelium on the roots, rarely rising above the root collar, with a pronounced preliminary weakening, and on trees without signs of preliminary weakening, with the presence of a high-rising fan of mycelium. Thus, this species appears to be the dominant in Siberia.

The second most common species, *A. cepistipes*, was isolated only from the places of dying trees in the lower layer; but the dead trees did not form groups. A rare and thin mycelium was found on the roots. The data on the dominance of *A. borealis* and *A. cepistipes* are consistent with the results of the work carried out earlier in Siberia using the method of species identification based on sexual compatibility tests (mating test) (Pavlov, 2015).

Isolates of the *A. ostoyae*, which has long been recognized as an aggressive primary pathogen, were found only in places of dying trees dominating in the upper canopy, without signs of preliminary weakening and with pronounced groups of dying trees. Rapid drying of trees (within a year) and the presence of a high-rising fan of mycelium were also observed, which also corresponds to several *A. borealis* isolates.

Due to the high degree of pathogenicity and wide spread of *A. ostoyae*, numerous studies of this species have been carried out (Omdal et al., 1995; Legrand et al., 1996; Morrison, Pellow, 2002; Prospero et al., 2008; Heinzelmann et al., 2020). Unfortunately, knowledge about the ecology of *A. borealis* is still insufficient. Field studies have shown that *A. borealis* is often less pathogenic than *A. ostoyae*, and that *A. borealis* is less likely to participate in primary attacks on living trees (Gregory, Watling, 1985; Bendel et al., 2006) and can act as a secondary pathogen, infecting trees that were previously weakened by other abiotic factors (Bendel et al., 2006). However, current studies in Finland, Siberia, and Far East demonstrated that *A. borealis* is much more pathogenic than *A. ostoyae* causing vast dry-outs (Pavlov, 2015). While experimental data on pathogenicity and *A. borealis* are limited, the data obtained suggest that *A. borealis* is similar or more virulent than *A. ostoyae* for conifer seedlings (Morrison, 2004), which is consistent with experimental data of Siberian isolates of *A. borealis* in our study.

A. gallica was isolated in places of dying trees in the lower layer with rare thin mycelium on the roots, or in places with sporadic dying trees with preliminary weakening and pronounced mycelium on the roots. This species is considered a saprotroph, like its closely related species

A. cepistipes. Previously, it was shown that species producing monopodially branched rhizomorphs, such as *A. gallica* and *A. cepistipes*, are less aggressive than species with dichotomously branched rhizomorphs (*A. mellea*, *A. borealis*, and *A. ostoyae*) (Morrison, 2004).

Moreover, *Pinus sibirica* Du Tour, *Abies sibirica* Ledeb. and *Abies nephrolepis* (Trautv. ex Maxim.) Maxim. were more susceptible to dieback than other species. Unlike *Heterobasidion annosum* s.l., dieback of conifers due to *Armillaria* often happened very quickly without any prior noticeable weakening (Fig. 1). Death of trees with well-developed crown that did not express any signs of oppression happened very quickly. Lifespan of their needles, tree size, and growth of shoots did not differ from the average values for the forest stand. The hypothesis is that the fungus can parasitize on the roots for a long time (as evidenced by numerous excavations of root systems). However, with a decrease in the defensive ability of the tree and the penetration of the mycelium into the zone of the root collar, a rapid ringing of the trunk and death occurs.

In our study, strains 10 and 11 (*Armillaria cepistipes* and *A. ostoyae*, respectively) were isolated from neighboring trees. The coexistence of several *Armillaria* species in closely spaced territories was previously reported mainly for *A. cepistipes* and *A. ostoyae* (Prospero et al., 2006). The rest of the strains collected from neighboring trees turned out to be the same organisms.

CONCLUSION

For the first time, genetic identification of Eastern Siberian and Far Eastern isolates of *Armillaria* was carried out. Phylogenetic analysis based on three markers made it possible to determine with high accuracy the species identity of the studied isolates. However, *TEF-1 α* also showed good differentiation and potentially can be used as a single molecular marker for species identification with some reservations. The isolates represented four different species, mostly *A. borealis* (18 out of 28 isolates). It is hard to conclude how many different clades or lineages have been identified in our study. We did not set the task of fully resolving all lineages; it can be solved only by using a larger number of markers or whole-genome sequencing. Our task was rather modest – to determine species identity among collected samples, and we believe that three highly polymorphic diagnostic markers, which are widely used in barcoding to identify species, are mostly sufficient, and we successfully completed this task.

The pathogenicity level of all isolates was consistent with the known data. Phylogenetic trees based on three markers, as well as based on a single marker *TEF-1 α* , revealed two or possibly three clades of *A. borealis*. Additional taxonomic and ecological studies are needed to verify whether strains in these clades represent separate

phylogenetic lineages and to find out whether they have different level of pathogenicity.

The maximum level of phytopathogenicity *in situ* and *in vitro* was noted in the Far Eastern strains of *A. ostoyae* (3 points; pathological drying area is from 4.8 to 16 ha) and the Siberian strains of *A. borealis* (2–3 points; drying area is from 0.1 to 31.8 ha; in rare cases, the death of single trees is noted).

The dominant species on the territory of Southern Siberia is *A. borealis*, which is characterized by morphological, phytopathogenic and genetic heterogeneity and demonstrates two behavioral strategies: 1) moderate (secondary) pathogen, infecting trees previously weakened by other abiotic factors – the fungus colonizes trees with a pronounced preliminary weakening; the mycelium fan develops mainly on the roots and rarely rises above the root collar, 2) an aggressive (primary) pathogen capable of causing epiphytiosis and occurring on trees without signs of preliminary weakening; the mycelium fan rises high along the trunk; the death of a tree can occur very quickly, within a year.

Supplemental information for this article and NCBI GenBank accession numbers of all nucleotide sequences of three gene regions (*TEF1*, ITS and IGS-1) used in the study are available in the Supplemental Files at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.21644732.v6> (Kolesnikova et al., 2023).

We thank Christine Radler and Alexandra Dolynska (Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany) for their assistance in the laboratory. This study was supported by research grants № 14.Y26.31.0004 from the Russian Federation Government for the “Genomics of the key boreal forest conifer species and their major phytopathogens in the Russian Federation” project and № 16-04-01400 from the Russian Foundation for Basic Research. The funding sources that supported this work did not have any involvement in the design, acquisition, or analysis of data or the writing of the manuscript.

REFERENCES

- Alves E., Lucas G.C., Pozza E.A. et al. Scanning electron microscopy for fungal sample examination. In: V.K. Gupta etc. (eds). Laboratory protocols in fungal biology: current methods in fungal biology. Springer, N.Y., 2013, pp. 133–150.
- Anderson J.B., Stasovski E. Molecular phylogeny of northern hemisphere species of *Armillaria*. Mycologia. 1992. V. 84. P. 505–516. <https://doi.org/10.1080/00275514.1992.12026170>
- Antonín V., Tomšovský M., Sedláček P. et al. Morphological and molecular characterization of the *Armillaria cepistipes* – *A. gallica* complex in the Czech Republic and Slovakia. Mycol. Progress. 2009. V. 8. P. 259–271. <https://doi.org/10.1007/s11557-009-0597-1>
- Baumgartner K., Coetzee M.P.A., Hoffmeister D. Secrets of the subterranean pathosystem of *Armillaria*. Mol. Plant Pathol. 2011. V. 12. № 6. P. 515–534. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00693.x>
- Bendel M., Kienast F., Bugmann H. et al. Incidence and distribution of *Heterobasidion* and *Armillaria* and their influence on canopy gap formation in unmanaged mountain pine forests in the Swiss Alps. Eur. J. Plant Pathol. 2006. V. 116. P. 85–93. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9028-1>
- Bryant D., Hahn M.W. The concatenation question. In: C. Scornavacca etc. (eds). Phylogenetics in the genomic era. 2020. Online Collection PGE. <https://hal.inria.fr/PGE>
- Burnham K.P., Anderson D.R. Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. Sociol. Methods Res. 2004. V. 33. P. 261–304. <https://doi.org/10.1177/0049124104268644>
- Cai L., Giraud T., Zhang N. et al. The evolution of species concepts and species recognition criteria in plant pathogenic fungi. Fungal Divers. 2011. V. 50. Art. 121. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0127-8>
- Coetzee M.P.A., Wingfield B.D., Wingfield M.J. *Armillaria* root-rot pathogens: species boundaries and global distribution. Pathogens. 2018. V. 7. Art. 83. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040083>
- Collins C., Keane T.M., Turner D.J. et al. Genomic and proteomic dissection of the ubiquitous plant pathogen, *Armillaria mellea*: toward a new infection model system. J. Proteome Res. 2013. V. 12. P. 2552–2570. <https://doi.org/10.1021/pr301131t>
- Cruickshank M.G., Morrison D.J., Punja Z.K. Incidence of *Armillaria* species in precommercial thinning stumps and spread of *Armillaria ostoyae* to adjacent Douglas-fir trees. Can. J. For. Res. 2011. V. 27. P. 481–490. <https://doi.org/10.1139/x96-185>
- Denman S., Barrett G., Kirk S.A. et al. Identification of *Armillaria* species on declined oak in Britain: implications for oak health. Forestry. Int. J. For. Res. V. 90. № 1. P. 48–161. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpw054>
- Dettman J.R., van der Kamp B.J. The population structure of *Armillaria ostoyae* and *Armillaria sinapina* in the central interior of British Columbia. Can. J. Bot. 2011. V. 79. № 5. P. 521–527. <https://doi.org/10.1139/b01-033>
- Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Res. 2004. V. 32. № 5. P. 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. Mol. Biol. Evol. 2010. V. 27. P. 221–224. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>

- Gregory S.C., Watling R. Occurrence of *Armillaria borealis* in Britain. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 1985. V. 84. P. 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(85\)80219-9](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(85)80219-9)
- Guillaumin J.J., Mohammed C., Anselmi N. et al. Geographical distribution and ecology of the *Armillaria* species in western Europe. *Eur. J. Forest Pathol.* 1993. V. 23. P. 321–341. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1993.tb00814.x>
- Guo T., Wang H.C., Xue W.Q. et al. Phylogenetic analyses of *Armillaria* reveal at least 15 phylogenetic lineages in China, seven of which are associated with cultivated *Gastrodia elata*. *PLOS One*. 2016. V. 11. Art. e0154794. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154794>
- Harrington T.C., Wingfield B.D. A PCR-based identification method for species of *Armillaria*. *Mycologia*. 1995. V. 87. P. 280–288. <https://doi.org/10.1080/00275514.1995.12026531>
- He M.Q., Zhao R.-L., Hyde K.D. et al. Notes, outline and divergence times of *Basidiomycota*. *Fungal Diversity*. 2019. V. 99. P. 105–367. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00435-4>
- Heinzelmann R., Prospero S., Rigling D. Virulence and stump colonization ability of *Armillaria borealis* on Norway spruce seedlings in comparison to sympatric *Armillaria* species. *Plant Disease*. 2016. V. 101. P. 470–479. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0933-RE>
- Heinzelmann R., Rigling D., Sipos G. et al. Chromosomal assembly and analyses of genome-wide recombination rates in the forest pathogenic fungus *Armillaria ostoyae*. *Heredity*. 2020. V. 124. P. 699–713. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0306-z>
- Kalyaanamoorthy S., Minh B., Wong T. et al. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods*. 2017. V. 14. P. 587–589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>
- Kartavtsev Y.P., Redin A.D. Estimates of genetic introgression, gene tree reticulation, taxon divergence, and sustainability of DNA barcoding based on genetic molecular markers. *Biol. Bull. Rev.* 2019. V. 9. P. 275–294. <https://doi.org/10.1134/S2079086419040042>
- Kausrud H., Schumacher T. Outcrossing or inbreeding: DNA markers provide evidence for type of reproductive mode in *Phellinus nigrolimitatus* (*Basidiomycota*). *Mycol. Res.* 2001. V. 105. P. 676–683. <https://doi.org/10.1017/S0953756201004191>
- Kim M.-S., Klopfenstein N.B., McDonald G.I. et al. Characterization of North American *Armillaria* species by nuclear DNA content and RFLP analysis. *Mycologia*. 2000. V. 92. P. 874–883. <https://doi.org/10.1080/00275514.2000.12061232>
- Klopfenstein N.B., Stewart J.E., Ota Y. Insights into the phylogeny of Northern Hemisphere *Armillaria*: Neighbor-net and Bayesian analyses of translation elongation factor 1- α gene sequences. *Mycologia*. 2017. V. 109. P. 75–91. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1286572>
- Koch R.A., Wilson A.W., Séné O. et al. Resolved phylogeny and biogeography of the root pathogen *Armillaria* and its gasteroid relative, *Guyanagaster*. *BMC Evol. Biol.* 2017. V. 17. Art. 33. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0877-3>
- Kolesnikova A.I., Pavlov I.N., Litovka Y.A. et al. Molecular identification of wood-decaying fungi of *Armillaria* genus widespread in Eastern Siberia and the Far East of Russia using ITS, IGS-1-1 and *TEF-1A* genetic markers. *Dataset. Figshare*. 2023. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.21644732.v6>
- Korhonen K., Hintikka V. Simple isolation and inoculation methods for fungal cultures. *Karstenia*. 1980. V. 20. P. 19–22. <https://doi.org/10.29203/ka.1980.192>
- Lanfear R., Frandsen P.B., Wright A.M. et al. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Mol. Biol. Evol.* 2017. V. 34. P. 772–773. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>
- Legrand P., Ghahari S., Guillaumin J.-J. Occurrence of genets of *Armillaria* spp. in four mountain forests in Central France: the colonization strategy of *Armillaria ostoyae*. *New Phytol.* 1996. V. 133. P. 321–332. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01899.x>
- Leigh J.W., Lapointe F.-J., Lopez P. et al. Evaluating phylogenetic congruence in the post-genomic Era. *Genome Biol. Evol.* 2011. V. 3. P. 571–587. <https://doi.org/10.1093/gbe/evr050>
- Leigh J.W., Susko E., Baumgartner M. et al. Testing congruence in phylogenomic analysis. *Syst. Biol.* 2008. V. 57. P. 104–115. <https://doi.org/10.1080/10635150801910436>
- Lushaj B.M., Woodward S., Keča N. et al. Distribution, ecology and host range of *Armillaria* species in Albania. *For. Pathol.* 2010. V. 40. P. 485–499. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2009.00624.x>
- Maphosa L., Wingfield B.D., Coetzee M.P.A. et al. Phylogenetic relationships among *Armillaria* species inferred from partial elongation factor 1- α DNA sequence data. *Australas. Plant Pathol.* 2006. V. 35. P. 513–520. <https://doi.org/10.1071/AP06056>
- Matute D.R., Sepúlveda V.E. Fungal species boundaries in the genomics era. *Fungal Genet. Biol.* 2019. V. 131. Art. 103249. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103249>
- McGowen M.R., Clark C., Gatesy J. The vestigial olfactory receptor subgenome of odontocete whales: phylogenetic congruence between gene-tree reconciliation and supermatrix methods. *Syst. Biol.* 2008. V. 57. P. 574–590. <https://doi.org/10.1080/10635150802304787>
- Mesanza N., Patten C.L., Iturriza E. Distribution and characterization of *Armillaria* complex in Atlantic forest ecosystems of Spain. *Forests*. 2017. V. 8. Art. 235. <https://doi.org/10.3390/f8070235>
- Morrison D.J. Rhizomorph growth habit, saprophytic ability and virulence of 15 *Armillaria* species. *For. Pathol.* 2004. V. 34. № 1. P. 15–26. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2003.00345.x>
- Morrison D.J., Pellow K.W. Variation in virulence among isolates of *Armillaria ostoyae*. *For. Pathol.* 2002. V. 32.

- P.99–107.
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2002.00275.x>
- Mulholland V., MacAskill G.A., Laue B.E. et al. Development and verification of a diagnostic assay based on *EF-1α* for the identification of *Armillaria* species in Northern Europe. *For. Pathol.* 2012. V. 42. P. 229–238.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2011.00747.x>
- Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A. et al. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015. V. 32. P. 268–274.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Norkrans B. The effect of glutamic acid, aspartic acid, and related compounds on the growth of certain *Tricholoma* species. *Physiol. Plant.* 1953. V. 6. P. 584–593.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1953.tb08415.x>
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012. V. 28. № 8. P. 1166–1167.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Omdal D.W., Shaw C.G., Jacobi W.R. et al. Variation of pathogenicity and virulence of isolates of *Armillaria ostoyae* on eight tree species. *Plant Disease.* 1995. V. 79. P. 939–944.
<https://doi.org/10.1094/PD-79-0939>
- Pavlov I.N. Biotic and abiotic factors as causes of coniferous forests dieback in Siberia and Far East. *Contemp. Probl. Ecol.* 2015. V. 8. P. 440–456.
<https://doi.org/10.1134/S1995425515040125>
- Prospero S., Holdenrieder O., Rigling D. Comparison of the virulence of *Armillaria cepistipes* and *Armillaria ostoyae* on four Norway spruce provenances. *For. Pathol.* 2004. V. 34. № 1. V. 1–14.
<https://doi.org/10.1046/j.1437-4781.2003.00339.x>
- Prospero S., Holdenrieder O., Rigling D. Rhizomorph production and stump colonization by co-occurring *Armillaria cepistipes* and *Armillaria ostoyae*: an experimental study. *For. Pathol.* 2006. V. 36. P. 21–31.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2006.00426.x>
- Prospero S., Lung-Escarment B., Dutech C. Genetic structure of an expanding *Armillaria* root rot fungus (*Armillaria ostoyae*) population in a managed pine forest in southwestern France. *Mol. Ecol.* 2008. V. 17. P. 3366–3378.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03829.x>
- Rishbeth J. Effects of soil temperature and atmosphere on growth of *Armillaria* rhizomorphs. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 1978. V. 70. P. 213–220.
[https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(78\)80033-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(78)80033-3)
- Rishbeth J. Infection cycle of *Armillaria* and host response. *Eur. J. Forest Pathol.* 1985. V. 15. № 5–6. P. 332–341.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1985.tb01108.x>
- Rishbeth J. Species of *Armillaria* in southern England. *Plant Pathol.* 1982. V. 31. P. 9–17.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1982.tb02806.x>
- Ross-Davis A.L., Hanna J.W., Klopfenstein N.B. et al. Advances toward DNA-based identification and phylogeny of North American *Armillaria* species using elongation factor-1 alpha gene. *Mycoscience.* 2012. V. 53. P. 161–165.
<https://doi.org/10.1007/S10267-011-0148-x>
- Shaw C.G., Kile G.A. *Armillaria* root disease. Agriculture handbook No. 691. Forest Service, Washington, 1991.
- Sipos G., Prasanna A.N., Walter M.C. et al. Genome expansion and lineage-specific genetic innovations in the forest pathogenic fungi *Armillaria*. *Nat. Ecol. Evol.* 2017. V. 1. P. 1931–1941.
<https://doi.org/10.1038/s41559-017-0347-8>
- Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *PNAS.* 2004. V. 101. № 30. P. 11030–11035.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101>
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021. V. 38. № 7. P. 3022–3027.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tsykun T., Rigling D., Prospero S. A new multilocus approach for a reliable DNA-based identification of *Armillaria* species. *Mycologia.* 2013. V. 105. P. 1059–1076.
<https://doi.org/10.3852/12-209>
- Vu D., Groenewald M., de Vries M. et al. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Stud. Mycol.* 2019. V. 92. № 1. P. 135–154.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.05.001>
- Wahlström K.T., Johansson M. Structural responses in bark to mechanical wounding and *Armillaria ostoyae* infection in seedlings of *Pinus sylvestris*. *Eur. J. Forest Pathol.* 1992. V. 22. P. 65–76.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1992.tb01434.x>
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols*. Elsevier, 1990, pp. 315–322.

Молекулярная идентификация дереворазрушающих грибов рода *Armillaria*, распространенных в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке России с использованием генетических маркеров ITS, IGS-1-1 и *TEF-1α*

А. И. Колесникова^{a, #}, И. Н. Павлов^{b, c, ##}, Ю. А. Литовк^{a, b, c, ###}, Н. В. Орешкова^{a, b, d, ####},
А. А. Тимофеев^{a, #####}, Е. А. Литвинова^{a, #####}, С. М. Петренко^{a, #####},
К. В. Крутовский^{d, e, f, g, #####}

^a Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”, Красноярск, Россия

^b Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия

^c Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева, Красноярск, Россия

^d Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

^e Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

^f Геттингенский университет им. Георга-Августа, Геттинген, Германия

^g Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

[#]e-mail: kolesnikova.denovo@gmail.com

^{##}e-mail: forester24@mail.ru

^{###}e-mail: litovkajul@rambler.ru

^{####}e-mail: oreshkova@ksc.krasn.ru

^{#####}e-mail: timofeyev95@gmail.com

^{#####}e-mail: litvinovaek22@ya.ru

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

^{#####}e-mail: konstantin.krutovsky@forst.uni-goettingen.de

Род *Armillaria* является важным компонентом лесных экосистем, играя очень важную экологическую роль в разложении валежной древесины, но часто становится серьезным патогеном, вызывающим белую корневую гниль деревьев. Также известно, что виды *Armillaria* значительно различаются по уровню патогенности. Таким образом, точная идентификация *Armillaria* имеет решающее значение для оценки риска заболевания деревьев. В данном исследовании мы проанализировали 28 изолятов *Armillaria* из Сибири и Дальнего Востока с использованием нуклеотидных последовательностей участков генов ITS, IGS-1-1 и *TEF-1α* и построили филогенетические деревья на основе метода максимального правдоподобия. Всего было идентифицировано четыре вида *Armillaria*: *A. borealis*, *A. cepistipes*, *A. ostoyae* и *A. gallica*. Среди собранных изолятов наиболее часто встречался *A. borealis* (18 из 28 изолятов). *A. gallica*, *A. cepistipes* и *A. ostoyae* встречались значительно реже: два, пять и три изолята из 28 соответственно. Впервые описано распространение видов *Armillaria* в Сибири и на Дальнем Востоке. Сделан вывод о том, что необходимы дальнейшие исследования для определения роли *Armillaria* в патологическом отмирании деревьев, и *A. borealis* должен быть в центре внимания.

Ключевые слова: Дальний Восток, белая корневая гниль, Сибирь, таксономия, филогения, *Armillaria*, *Basidiomycota*, IGS, ITS, *TEF-1α*

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 575.174.015.3 : 632.4.01/.08

РАСОВЫЙ СОСТАВ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНА *ToxA* В ГЕОГРАФИЧЕСКИ ОТДАЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS*

© 2024 г. Н. В. Мироненко^{1,*}, А. С. Орина^{1,**}, Н. М. Коваленко^{1,***}, Н. Г. Зубко^{1,****}

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

*e-mail: nina2601mir@mail.ru

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

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

****e-mail: sacura0@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.07.2023 г.

После доработки 12.10.2023 г.

Принята к публикации 28.12.2023 г.

Возбудитель желтой пятнистости пшеницы — аскомицет *Pyrenophora tritici-repentis* — продуцирует специфичные некротрофные эффекторы Ptr ToxA, Ptr ToxB и Ptr ToxC, индуцирующие некроз и хлороз на листьях восприимчивых сортов. По способности штаммов *P. tritici-repentis* продуцировать отдельные некротрофные эффекторы или их комбинации различают восемь рас патогена. Мониторинг расового состава популяций *P. tritici-repentis* необходим для оценки эволюционного потенциала возбудителя и разработки методологии создания сортов зерновых культур с длительной устойчивостью. Нами проанализированы 179 моноконидиальных штаммов *P. tritici-repentis* из популяций Казахстана и России в 2020–2022 гг. Выявлено повсеместное распространение рас 2 и 4, штаммы которых присутствовали в каждой изученной популяции *P. tritici-repentis* с частотой 2–36 и 7–82 % соответственно. Отмечено доминирование представителей авирулентной расы 4, доля которой составила 27% среди всех проанализированных штаммов *P. tritici-repentis*. Молекулярная идентификация генов *ToxA* и *ToxB*, а также *toxb* — гомолога гена *ToxB* — у 118 штаммов *P. tritici-repentis* из шести популяций выявила присутствие гена *ToxA* у 69% изученных штаммов гриба. Ген *ToxB* не был обнаружен ни у одного штамма *P. tritici-repentis*, тогда как ген *toxb* встречался спорадически и был выявлен в геноме 18 штаммов *P. tritici-repentis* (9%), большинство из которых были отнесены к авирулентной расе 4. При идентификации гена *ToxA* были выявлены десять штаммов *P. tritici-repentis*, у которых амплифицировался продукт размером ~800 п.н., значительно превышающий ожидаемый, что объясняется наличием инсерции в амплифицируемом участке гена *ToxA*. Такие гены были названы *ToxAL*. Все штаммы *P. tritici-repentis* с вариантом *ToxAL* были отнесены к расам 4 и 5, не образующим некротрофный эффектор Ptr ToxA. Структура гена *ToxAL* и его белкового продукта является предметом дальнейших исследований.

Ключевые слова: желтая пятнистость, инсерция, раса 3, раса 4, раса 5, *ToxA*, *ToxB*, *toxb*.

DOI: 10.31857/S0026364824030064, **EDN:** vitnfb

ВВЕДЕНИЕ

Желтая пятнистость листьев — экономически значимое заболевание мягкой и твердой пшеницы (Wegulo et al., 2009), возбудителем которого является аскомицет *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. Вирулентность штаммов этого гриба определяется их способностью синтезировать хозяинспецифичные фитотоксины или, согласно новым представлениям, некротрофные эффекторы (NEs), которые при взаимодействии с соответствующими генами восприимчивости растения-хозяина индуцируют симптомы некроза или хлороза. К настоящему времени в геноме *P. tritici-repentis* идентифицированы три некротрофных эффектора — индуцирующие

некроз (Ptr ToxA) и хлороз (Ptr ToxB и Ptr ToxC) на листьях восприимчивых сортов, которые взаимодействуют с комплементарными им генами восприимчивости пшеницы *Tsn1*, *Tsc2* и *Tsc1* соответственно (Ciuffetti et al., 1997). По способности продуцировать один или несколько NEs и вызывать симптомы желтой пятнистости при инокуляции растений пшеницы трех дифференциаторов (сорт Glenlea, линии 6B365, 6B662) штаммы *P. tritici-repentis* классифицируют на восемь рас: три расы продуцируют по одному NE, три расы — по два, одна раса — все три NEs, и одна раса (раса 4) не продуцирует ни одного из известных NEs и считается авирулентной (Strelkov et al., 2003).

Для двух NE белковой природы Ptr ToxA и Ptr ToxB известны их генетические детерминанты — однокопийный ген *ToxA* и мультикопийный ген *ToxB*, — для которых разработаны системы молекулярной диагностики (Martinez et al., 2004; Andrie et al., 2007). Генетическая детерминация фитотоксина Ptr ToxC, который имеет небелковую природу, остается мало изученной (Shi et al., 2022). У авирулентных штаммов *P. tritici-repentis* расы 4, не продуцирующих известные NEs, был выявлен ген *toxh*, гомологичный гену *ToxB* (Martinez et al., 2004).

Мониторинг расового состава популяций *P. tritici-repentis* позволяет получать фундаментальные знания о микроэволюции популяций и молекулярно-генетических аспектах взаимоотношений в системе “растение — хозяин — патоген” (Afanasenkov, Novozhilov, 2009).

Цель настоящего исследования — охарактеризовать популяции *P. tritici-repentis*, существующие на территориях Казахстана и РФ в период 2020–2022 гг., по расовому составу и генотипировать штаммы по генам-эффекторам *ToxA*, *ToxB* и *toxh*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стали восемь образцов популяций *P. tritici-repentis*, выделенных из листьев озимой пшеницы с симптомами желтой пятнистости: четыре образца из Казахстана — Алматинская (2020 и 2022 гг.), Костанайская (2021 г.), Северо-Казахстанская (2020 г.) области — и четыре образца из России — Краснодарский край, Ленинградская и Тамбовская области, Республика Татарстан (все 2022 г.). Всего было выделено 179 изолятов и из каждого изолята получен один моноконидиальный штамм *P. tritici-repentis*.

Культуры грибов выращивали на среде V4, приготвленной на основе смеси соков четырех овощей (Mikhailova et al., 2002) при 22 °C в течение 7–10 сут. Расовый состав популяций *P. tritici-repentis* определяли при инокуляции пшеницы сорта Glenlea, линий 6B365 и 6B662, дифференцирующих штаммы гриба по образованию некротрофных эффекторов Ptr ToxA, Ptr ToxB и Ptr ToxC (Strelkov, Lamari, 2003). Отрезки листьев от 5–10 растений каждого дифференциатора в возрасте семи дней помещали

в кювету на поверхность фильтровальной бумаги, увлажненной 0.004%-м р-ром бензимидазола и опрыскивали суспензией конидий каждого штамма *P. tritici-repentis* с концентрацией 3000–5000 конидий/мл по 200–300 мкл суспензии на каждый образец. Кюветы инкубировали при температуре 22 °C и освещенности 1500 Лм, фотопериод составлял 12 ч. Оценку вирулентности проводили на 5–6-е сутки по наличию/отсутствию некрозов и хлорозов на инокулированных листьях (Mikhailova et al., 2002, 2014), расовую принадлежность определяли согласно разработанной Lamari, Strelkov (2010) методике (табл. 1).

Выделение геномной ДНК из мицелия грибов проводили методом СТАВ (Murray, Thompson, 1980). Амплификацию фрагментов генов *ToxA*, *ToxB* и *toxh* для ДНК каждого штамма *P. tritici-repentis*, включенного в исследование, проводили с помощью ПЦР с праймерами TA51/TA52, TB71/TB60 и TB71/TB58 по протоколам авторов (Andrie et al., 2007). Ожидаемые размеры продуктов амплификации составляли 573, 232 и 232 п.н. соответственно.

Известно, что праймеры TB71/TB60 дают продукты амплификации одинакового размера для обоих генов — *ToxB* и *toxh* — и для их верификации необходимо ставить дополнительную ПЦР с праймерами TB71/TB58, специфичными для гена *toxh*.

Статистический анализ данных проводили в программе Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Идентификация расового состава популяций *Pyrenophora tritici-repentis*

Анализ расового состава популяций *P. tritici-repentis* разного происхождения с помощью инокуляции отрезков листьев пшеницы сортов-дифференциаторов выявил среди изученных штаммов гриба представителей всех рас (табл. 2). Наиболее распространенными оказались расы 2 и 4, которые были выявлены в каждой изученной популяции *P. tritici-repentis* с частотой 2–36 и 7–82% соответственно. Каждая из рас 1, 3 и 8 была обнаружена в пяти популяциях с частотами 5–50%. Представители рас 5, 6 и 7 оказались

Таблица 1. Характеристика рас *Pyrenophora tritici-repentis* по способности заражать растения пшеницы сортов/линий-дифференциаторов по Lamari, Strelkov (2010)

Сорт/линия пшеницы	Некротрофный эффектор	Раса <i>P. tritici-repentis</i>							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Glenlea	Ptr ToxA	+	+	–	–	–	–	+	+
6B662	Ptr ToxB	–	–	–	–	+	+	+	+
6B365	Ptr ToxC	+	–	+	–	–	+	–	+

наименее встречающимися, и были выявлены в трех популяциях каждая с частотой 6–36%.

Среди изученных популяций *P. tritici-repentis* казахстанского происхождения наиболее разнообразной оказалась Каз20-ЮВ, приуроченная к листьям пшеницы из Алматинской обл., в которой присутствовали восемь рас. Также в популяции Каз21-С из Костанайской обл. обнаружены представители шести рас. Две другие изученные популяции *P. tritici-repentis* из Казахстана были представлены пятью и тремя расами соответственно.

В России наиболее разнообразной по расовому составу оказалась популяция *P. tritici-repentis* Лен-22 из Ленинградской обл., в которой были обнаружены представители шести рас, в т.ч. редких рас 5, 6 и 7, не выявленных в других российских популяциях. В популяциях из Краснодарского края и Тамбовской обл. были выявлены пять рас, а их состав оказался идентичным. Популяция Тат-22 из Татарстана была представлена только штаммами двух рас *P. tritici-repentis*.

Среди всех изученных штаммов *P. tritici-repentis* чаще встречались представители расы 4 — их доля составила 27%. При этом штаммы этой расы существенно преобладали в двух популяциях из Северного Казахстана (43 и 57%) и популяции из Татарстана (82%). Доли штаммов, для которых в результате определения расового состава выявлено продуцирование некротрофных эффекторов Ptr ToxA (расы 1, 2, 7 и 8) и Ptr ToxC (расы 1, 3, 6, и 8), оказались сходными и составили 42 и 46% соответственно. В то же время доля штаммов *P. tritici-repentis*, образующих Ptr ToxB (расы 5, 6, 7 и 8), была существенно ниже — 25%.

Генотипирование штаммов *P. tritici-repentis* по наличию генов-эффекторов

Среди проанализированных 118 штаммов *P. tritici-repentis* из шести популяций присутствие в геноме гена *ToxA* было выявлено у 81 штамма (69%). В казахстанских популяциях из Алматинской обл. (Каз20-ЮВ и Каз22-ЮВ), а также в российской популяции из Краснодарского края (Кр-22) все проанализированные штаммы имели *ToxA*, тогда как в трех других популяциях Каз22-С, Каз20-С и Тат-22 доля штаммов *P. tritici-repentis* с *ToxA* составляла 27.3% (табл. 3).

Для 77 штаммов *P. tritici-repentis* (65% от числа изученных штаммов) наличие или отсутствие *ToxA* в геноме совпало со способностью заражать отрезки листьев пшеницы сорта Glenlea, который дифференцирует некротрофный эффектор Ptr Tox A. Напротив, 33 штамма *P. tritici-repentis* (28%),

у которых в геноме был выявлен ген *ToxA*, не вызывали некроз на листьях сорта Glenlea, что позволяет предположить, что они по каким-либо причинам не продуцируют Ptr Tox A. Восемь штаммов *P. tritici-repentis* (7%) при инокуляции вызывали симптомы некроза на листьях пшеницы сорта Glenlea, однако в их геноме не был обнаружен *Tox A*.

При проведении ПЦР с праймерами TA51/TA52, специфичными для гена *ToxA*, были выявлены еще десять штаммов *P. tritici-repentis* (8.5% от общего числа анализированных штаммов), с ДНК которых амплифицировался продукт размером ~800 п.н., значительно превышающий ожидаемый размер 573 п.н. (рис. 1). Увеличение размера продукта амплификации объясняется наличием инсерции в амплифицируемом фрагменте гена *Tox A*. Ген, несущий такую инсерцию, назвали *ToxAL* (*ToxA large*). Штаммы *P. tritici-repentis* с вариантом *ToxAL* были выявлены в популяциях из Костанайской и Северо-Казахстанской областей (Казахстан), а также в популяции из Татарстана (Россия). Все штаммы *P. tritici-repentis* с вариантом *ToxAL* были отнесены к расам 4 и 5, не продуцирующим некротрофный эффектор Ptr Tox A.

Среди изученных 118 штаммов *P. tritici-repentis* ни у одного не был выявлен ген *ToxB* (табл. 3). Для 86 штаммов *P. tritici-repentis* (73% от числа проанализированных штаммов) отсутствие *ToxB* в геноме совпало с неспособностью заражать отрезки листьев пшеницы линии 6B662, которая дифференцирует некротрофный эффектор Ptr Tox B. ген *ToxB* не был обнаружен в геноме оставшихся 32 штаммов (27%), хотя они вызывали хлороз на отрезках листьев линии 6B662.

Штаммы *P. tritici-repentis*, генотипированные по *ToxA* и *ToxB*, у которых фитопатологическая оценка вирулентности не совпала с молекулярной идентификацией генов эффекторов, отнесены к “нетипичным”.

Ген *toxb* был выявлен в геноме 18 штаммов *P. tritici-repentis* (15% от числа проанализированных штаммов), большинство из которых (12 шт.) были отнесены к авирулентной расе 4, тогда как четыре и два штамма были идентифицированы как представители рас 5 и 2 соответственно. В российской популяции из Татарстана 91% штаммов *P. tritici-repentis* имели ген *toxb*, одновременно в геноме четырех штаммов из этой популяции был также обнаружен мутантный ген *ToxAL*.

Таблица 2. Расовый состав популяций *Rugophora tritici-repentis* из Казахстана и России в 2020–2022 гг.

Популяция	Происхождение, год выделения	Всего штаммов	Количество штаммов <i>P. tritici-repentis</i> определенной расы в популяции, шт. (% от общего числа штаммов в популяции)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Каз20-ЮВ*	Казахстан, Алматинская обл., 2020	31	2 (6%)	1 (4%)	7 (23%)	4 (13%)	2 (6%)	3 (10%)	6 (19%)	6 (19%)
Каз22-ЮВ	Казахстан, Алматинская обл., 2022	20	10 (50%)	4 (20%)	2 (10%)	3 (15%)	0	0	0	1 (5%)
Каз22-С**	Казахстан, Костанайская обл., 2021	39	3 (8%)	2 (5%)	5 (13%)	17 (43%)	11 (28%)	1 (3%)	0	0
Каз20-С	Казахстан, Северо-Казахстанская область, 2020	7	0	1 (14%)	0	4 (57%)	0	0	2 (29%)	0
Кр-22	Россия, Краснодарский край, 2022	15	7 (46%)	5 (33%)	1 (7%)	1 (7%)	0	0	0	1 (7%)
Лен-22	Россия, Ленинградская обл., 2022	14	0	5 (36%)	0	1 (7%)	1 (7%)	1 (7%)	5 (36%)	1 (7%)
Тамб-22	Россия, Тамбовская обл., 2022	42	6 (14%)	1 (2%)	21 (50%)	10 (24%)	0	0	0	4 (10%)
Тат-22	Россия, Татарстан, 2022	11	0	2 (18%)	0	9 (82%)	0	0	0	0
Всего штаммов		179	28 (16%)	21 (12%)	36 (20%)	49 (27%)	14 (8%)	5 (3%)	13 (7%)	13 (7%)

Примечание. *Юго-восточный Казахстан; **Северный Казахстан.

Таблица 3. Характеристика штаммов *P. tritici-repentis* по наличию генов-эффекторов

Популяция	Число проанализированных штаммов, шт.	Число штаммов, у которых обнаружен ген-эффектор, шт.			
		<i>ToxA</i>	<i>ToxAL*</i>	<i>ToxB</i>	<i>toxb</i>
Каз20-ЮВ	31	31	0	0	1
Каз22-ЮВ	20	20	0	0	0
Каз22-С	37	15	5	0	7
Каз20-С	7	2	1	0	0
Кр-22	12	12	0	0	0
Тат-22	11	1	4	0	10
Всего штаммов	118	81	10	0	18

Примечание. **ToxAL* – вариант гена *ToxA*, несущий инсерцию (*ToxA large*).

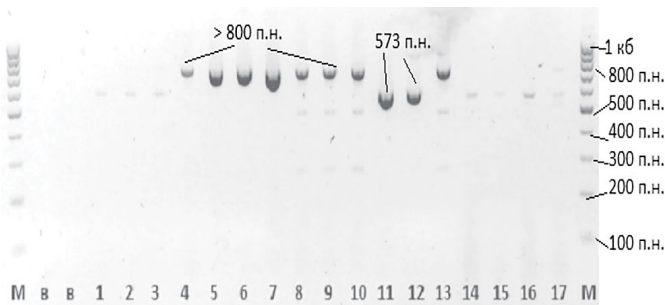


Рис. 1. Идентификация гена *ToxA* в изолятах *P. tritici-repentis*. Обозначения: в – вода, 1–3 и 14–17 – штаммы *P. tritici-repentis* без *ToxA*; 4 – Каз-22С-А53; 5 – Каз-22С-А64; 6–9 –Тат-22-1–4; 10 – Каз-22С-Ф22; 11–13 – Каз-20С-23–25; 14–17 – Тат-22-1–4. М – маркер молекулярных весов 100 bp (GeneRuler DNA Ladder, Fermentas).

ОБСУЖДЕНИЕ

В 2020–2022 гг. была создана коллекция из 179 моноконидиальных штаммов *P. tritici-repentis* из географически отдаленных популяций Казахстана и России. Для всех штаммов была определена вирулентность к сорту Glenlea и линиям 6В365 и 6В662, дифференцирующим расы *P. tritici-repentis*. Наиболее распространенной оказалась авирулентная раса 4, доля которой составила 27% от всех анализированных штаммов. Также с высокой частотой встречались расы 1, 2 и 3–16, 12 и 20% соответственно. Тогда как расы 5, 6, 7 и 8 оказались минорными: их доля варьировала в диапазоне 3–8%.

За последние годы накопились данные об изменениях расового состава возбудителя желтой пятнистости (Mironenko et al., 2015; Moreno et al., 2015; See et al., 2018; Guo et al., 2020), которые обусловлены изменениями климатических условий, генотипами выращиваемых сортов пшеницы и другими причинами. Динамику встречаемости в российских популяциях *P. tritici-repentis* штаммов расы 4 можно проследить в ранее проведенных нами

исследованиях. В 2005 г. раса 4 не была найдена в популяциях из Краснодарского края (Mikhaylova et al., 2007), а к 2008 году ее встречаемость возросла до 13% (Mikhaylova et al., 2010). В северо-кавказской популяции в 2005 году было 3% штаммов, отнесенных к расе 4, причем все они были выделены из твердой пшеницы, выращенной в Дербенте (Mikhaylova et al., 2007). В 2011 г. авирулентная раса 4 встречалась в северо-западной и северокавказской популяциях с частотой 10–13%, а к 2013 году доля штаммов расы 4 в популяции из Северного Кавказа составляла 13%, а в северо-западной популяции – 18% (Mikhaylova et al., 2014, 2015). В данной работе нами выявлено увеличение частоты штаммов авирулентной расы 4 в современных популяциях *P. tritici-repentis* из Казахстана и России в среднем до 27%. Наиболее высокая встречаемость расы 4 отмечена в Северном Казахстане и Татарстане (43–82%), что, вероятно, объясняется сходными климатическими условиями.

Другими исследователями ранее отмечалась низкая частота встречаемости штаммов расы 4 на образцах мягкой пшеницы (Ali, Franci, 2003; Lamari et al., 1995; Kamel et al., 2019; Lamari, Bernier, 1989; Sarova et al., 2005). Показано, что твердая и мягкая пшеница значительно различаются по реакции на различные расы *P. tritici-repentis*, а штаммы расы 4 могут быть вирулентны по отношению к твердой пшенице (Gou et al., 2020). Способность штаммов расы 4 заражать образцы твердой пшеницы может быть обусловлена наличием специфичных факторов вирулентности патогена, что необходимо учитывать при селекции новых сортов этой культуры.

За период 2012–2014 гг. в популяциях *P. tritici-repentis*, выделенных из листьев пшеницы в Северной Дакоте, доля штаммов расы 4 составила 13–32% (Abdullah et al., 2017), тогда как из других дикорастущих видов злаков (алтайская дикорастущая рожь, ежовник обыкновенный, пырей, кострец гладкий

и вейник песчаный) штаммы *P. tritici-repentis* расы 4 выделялись с частотой 40–98% (Abdullah et al., 2017; Ali, Francl, 2003). Очевидно, что резервуаром сохранения изолятов расы 4 являются различные виды альтернативных растений-хозяев.

Хотя штаммы *P. tritici-repentis* расы 4 не продуцируют ни один из известных некротрофных эффекторов, они могут обладать геном *toxb*, который на 86% гомологичен гену *ToxB* и может экспрессироваться на низком уровне, что объясняет низкую вирулентность расы 4 и некоторых изолятов расы 5 (Amaike et al., 2008; Martinez et al., 2004). В данном исследовании ген *toxb* был обнаружен у 12 штаммов из 38, отнесенных к расе 4 по вызываемым ими симптомам на сортах-дифференциаторах и включенных в молекулярно-генетическое исследование, что составляет 32%. Остальные штаммы расы 4 имели гены *ToxA* (39%) или *ToxAL* (9%). Очевидно, у этих штаммов *P. tritici-repentis* расы 4 обнаруженные гены *ToxA* и *ToxAL* не экспрессировались.

Ген *ToxB* не был выявлен во всей анализируемой выборке изолятов, что подтвердило его редкую встречаемость во всем мире (Lamari et al., 1995; Ali et al., 1999; Martinez et al., 2001; Antoni et al., 2010; Mironenko et al., 2015).

Выявление нами продуктов амплификации гена *ToxA* размером 800 п.н. позволяет предположить наличие инсерции в данном гене. Впервые наличие инсерции в гене *ToxA* было описано в 2018 г. (Moolhuijzen et al., 2018). Вставка размером 166 п.н. была идентифицирована как повторяющийся элемент, представленный в количестве 100–150 копий на геном. Инсерционный элемент назвали PtrHp1 и определили его распространенность в популяциях патогена (Moolhuijzen et al., 2018). По нашим предварительным данным, обнаруженная нами инсерция в гене *ToxA* имеет сходный размер около 160 п.н. Детальное изучение мутантных генов *ToxAL*, включающее определение последовательности и локализацию инсерции, а также ее влияние на экспрессию гена, является предметом дальнейшего изучения. По результатам анализа вирулентности штаммов с геном *ToxAL* можно судить о потере его функциональности.

Изменение вирулентных свойств изолятов *P. tritici-repentis* и обнаружение новых рас обусловлено генетической изменчивостью патогена (Moolhuijzen et al., 2018; Kamel et al., 2019). В данном исследовании в популяциях *P. tritici-repentis* выявлены “нетипичные” штаммы, у которых молекулярная диагностика генов-эффекторов *ToxA* и *ToxB* не соответствовала идентифицированной фитопатологической расе. Доля таких штаммов составила 35% для

некротрофного эффектора Ptr *ToxA* и 27% — для Ptr *ToxB*. Ранее в популяциях *P. tritici-repentis* из юго-восточного Казахстана и Краснодарского края среди штаммов была выявлена 100% встречаемость гена *ToxA*, однако часть этих штаммов оказалась неспособной индуцировать некроз при инокуляции листьев пшеницы сорта Glenlea (Mironenko et al., 2019), что может быть следствием нарушения экспрессии гена *ToxA*, мутациями в его кодирующей части или наличием гомологов *ToxA* в геноме патогена (Benslimane, 2018). В то же время в популяциях Северо-Запада России и Северо-Казахстанской области Казахстана доля штаммов *P. tritici-repentis* с геном *ToxA* варьировала от 5.5 до 66%, но при этом доля штаммов, индуцирующих некроз на листьях пшеницы Glenlea, была существенно выше — от 34 до 82%. Этот факт свидетельствует о наличии в этих популяциях штаммов, продуцирующих некротрофные эффекторы, отличные от Ptr *ToxA* (Mironenko et al., 2019). Предположения о существовании дополнительного некротрофного эффектора(ов) в геноме *P. tritici-repentis* также выдвигались другими авторами (Guo et al., 2020; Moreno et al., 2015; Kamel et al., 2019).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе нами выявлено существенное увеличение частоты авирулентной расы 4 в современных популяциях *P. tritici-repentis* из Северного Казахстана и республики Татарстан до 43–82% по сравнению с предыдущими годами. Эти данные необходимо учитывать в селекционных программах по твердой пшенице, поскольку известно, что изоляты расы 4 вирулентны к твердой пшенице.

Штаммы *P. tritici-repentis* с вариантом гена *ToxA* (обозначен как *ToxAL*), получившие инсерцию в кодирующей области гена, были выявлены в казахстанских популяциях из Костанайской и Северо-Казахстанской обл., а также в российской популяции из Татарстана.

Выявленные особенности возбудителя желтой пятнистости пшеницы гриба *Pyrenophora tritici-repentis* — изменение расового состава популяций за счет появления новых ранее неизвестных эффекторов и мутационных изменений гена *ToxA*, характеризуют эволюционный потенциал патогена как очень высокий, что определяет необходимость проведения подобных исследований вирулентности и молекулярных детерминантов признаков вирулентности патогена на популяционном уровне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abdullah S., Sehgal S.K., Ali S. Race diversity of *Pyrenophora tritici-repentis* in South Dakota and response of predominant wheat cultivars to tan spot. J. Plant Pathol. Microbiol. 2017. V. 8. P. 409.
<https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000409>
- Afanasenkov O.S., Novozhilov K.V. Problems of rational use of genetic resources for plant disease resistance. Ekologicheskaya genetika. 2009. V. 7(2). P. 38–42 (in Russ.).
- Ali S., Franc L.J., De Wolf E.D. First report of *Pyrenophora tritici-repentis* race 5 from North America. Plant Dis. 1999. V. 83. P. 591.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.6.591A>
- Amaike S., Ozga J.A., Basu U. et al. Quantification of *ToxB* gene expression and formation of appressoria by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* differing in pathogenicity. Plant Pathology. 2008. V. 57. P. 623–633.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01821.x>
- Andrie R.M., Pandelova I., Ciuffetti L.M. A combination of phenotypic and genotypic characterization strengthens *Pyrenophora tritici-repentis* race identification. Phytopathol. 2007. V. 97. P. 694–701.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-6-0694>
- Antoni E.A., Rybak K., Tucker M.P. et al. Ubiquity of *ToxA* and absence of *ToxB* in Australian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. Austral. Plant Pathol. 2010. V. 39. P. 63–68. <https://doi.org/10.1071/AP09056>
- Benslimane H. Virulence phenotyping and molecular characterization of a new virulence type of *Pyrenophora tritici-repentis* the causal agent of tan spot. Plant Pathol. 2018. V. 34(2). P. 139–142.
<https://doi.org/10.5423/ppj.nt.07.2017.0150>
- Ciuffetti L.M., Tuuori R.P., Gaventa J.M. A single gene encodes a selective toxin causal to the development of tan spot of wheat. The Plant Cell. 1997. V. 9. P. 135–144.
- Guo J., Shi G., Kalil A. et al. *Pyrenophora tritici-repentis* Race 4 Isolates cause disease on tetraploid wheat. Phytopathology. 2020. V. 110. P. 1781–1790.
<https://doi.org/10.1094/phyto-05-20-0179-r>
- Kamel S., Cherif M., Hafez M. et al. *Pyrenophora tritici-repentis* in Tunisia: race structure and effector genes. Front. Plant Sci. 2019. V. 10. P. 1562.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01562>
- Lamari L., Bernier C.C. Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the differential host reaction. Can. J. Plant Pathol. 1989. V. 11. P. 284–290.
- Lamari L., Sayoud R., Boulif M. et al. Identification of a new race in *Pyrenophora tritici-repentis*: implication for the current pathotype classification system. Can. J. Plant Pathol. 1995. V. 17. P. 312–318.
<https://doi.org/10.1080/07060669509500668>
- Lamari L., Strelkov S.E. The wheat – *Pyrenophora tritici-repentis* interaction: progress towards an understanding of tan spot disease. Can. J. Plant Pathol. 2010. V. 32(1). P. 4–10.
<https://doi.org/10.1080/07060661003594117>
- Martinez J.P., Oesch N.W., Ciuffetti L.M. Characterization of the multiple-copy host-selective toxin gene, *ToxB*, in pathogenic and nonpathogenic isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. Mol. Plant-Microbe Interact. 2004. V. 17. P. 467–474.
<https://doi.org/10.1094/mpmi.2004.17.5.467>
- Martinez J.P., Ottum S.A., Ali S., Franc L.J., Ciuffetti L.M. Characterization of the *ToxB* gene from *Pyrenophora tritici-repentis*. Mol. Plant-Microbe Interact. 2001. V. 14. P. 675–677.
<https://doi.org/10.1094/mpmi.2001.14.5.675>
- Mikhaylova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus and North-West Russia: the racial composition and dynamics of virulence. Mikologiya i fitopatologiya. 2014. V. 8(6). P. 393–400 (in Russ.).
- Mikhaylova L.A., Gulyaeva E.I., Kokorina N.M. Laboratory methods for cultivating the wheat tan spot pathogen *Pyrenophora tritici-repentis*. Mikologiya i fitopatologiya. 2002. V. 36(1). P. 63–67 (in Russ.).
- Mikhaylova L.A., Kovalenko N.M., Mironenko N.V. et al. Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* on the territory of Russia. Mikologiya i fitopatologiya. 2015. V. 49(4). P. 257–261 (in Russ.).
- Mikhaylova L.A., Ternyuk I.G., Mironenko N.V. Characteristic of *Pyrenophora tritici-repentis* populations by their virulence. Mikologiya i fitopatologiya. 2010. V. 44(3). P. 263–272 (in Russ.).
- Mikhaylova L.A., Ternyuk I.G., Mironenko N.V. Structure of *Pyrenophora tritici-repentis* populations from European part of Russia by virulence. Mikologiya i fitopatologiya. 2007. V. 41(3). P. 269–275 (in Russ.).
- Mironenko N.V., Baranova O.A., Kovalenko N.M. et al. Frequency of *ToxA* gene in North Caucasian and North-West Russian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. Mikologiya i fitopatologiya. 2015. V. 49(5). P. 325–329 (in Russ.).
- Mironenko N.V., Kovalenko N.M., Baranova O.A. Characteristics of the geographically distant populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in terms of virulence and *ToxA* and *ToxB* toxin-forming genes. Vestnik zashchity rasteniy. 2019. V. 1. P. 24–29 (in Russ.).
[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-24-29](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29)
- Moolhuijzen P.M., See P.T., Oliver R.P. et al. Genomic distribution of a novel *Pyrenophora tritici-repentis* *ToxA* insertion element. PLOS One. 2018. V. 13(10). Art. e0206586. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206586>
- Moreno M.V., Stenglein S., Perelló A.E. Distribution of races and Tox genes in *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from wheat in Argentina. Trop. Plant Pathol. 2015. V. 40. P. 141–146.
<https://doi.org/10.1007/s40858-015-0011-2>
- Murray H.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res. 1980. V. 8. P. 4321–4325.
- Šárová J., Hanzalová A., Bartoš P. Races of *Pyrenophora tritici-repentis* in the Czech Republic. Acta Agrobotanica. 2005. V. 58. P. 73–78.
<https://doi.org/10.5586/aa.2005.011>

- See P.T., Marathamuthu K.A., Iagallo E.M. et al. Evaluating the importance of the tan spot *ToxA*–*Tsn1* interaction in Australian wheat varieties. *Plant Pathol.* 2018. V. 67. P. 1066–1075. <https://doi.org/10.1111/ppa.12835>
- Shi G., Kariyawasam G., Liu S. et al. A conserved hypothetical gene is required but not sufficient for *Ptr ToxC* production in *Pyrenophora tritici-repentis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions.* 2022. V. 35(4). P. 336–348. <https://doi.org/10.1094/mpmi-12-21-0299-R>.
- Strelkov S.E., Lamari L. Host-parasite interactions in tan spot *Pyrenophora tritici-repentis* of wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 2003. V. 25(4). P. 339–349. <https://doi.org/10.1080/07060660309507089>.
- Wegulo S.N., Breathnach J.A., Baenziger P.S. Effect of growth stage on the relationship between tan spot and spot blotch severity and yield in winter wheat. *Crop Protection.* 2009. V. 28(8). P. 696–702. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.04.003>
- Афанасенко О.С., Новожилков К.В. (Afanasenko, Novozhilov) Проблемы рационального использования генетических ресурсов устойчивости растений к болезням // Экологическая генетика. 2009. Т. 7. № 2. С. 38–42.
- Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М. и др. (Mironenko et al.) Частота гена *ToxA* в популяциях *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе и северо-западе России // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49. № 5. С. 325–329.
- Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М. (Mironenko et al.) Характеристика географически отдаленных популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по вирулентности и генам токсинообразования *ToxA* и *ToxB* // Вестник защиты растений. 2019. Т. 1. № 99. С. 24–29.
- Михайлова Л.А., Гульяева Е.И., Кокорина Н.М. (Mikhaylova et al.) Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis* // Микология и фитопатология. 2002. Т. 36. № 1. С. 63–67.
- Михайлова Л.А., Тернюк И.Г., Мироненко Н.В. (Mikhaylova et al.) Структура популяций *Pyrenophora tritici-repentis* из европейской части России по признаку вирулентности // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41. № 3. С. 269–275.
- Михайлова Л.А., Тернюк И.Г., Мироненко Н.В. (Mikhaylova et al.) Характеристика популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по признаку вирулентности // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44. № 3. С. 263–272.
- Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. (Mikhaylova et al.) Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе и северо-западе России: расовый состав и динамика вирулентности // Микология и фитопатология. 2014. Т. 48. № 6. С. 393–400.
- Михайлова Л.А., Коваленко Н.М., Мироненко Н.В. и др. (Mikhaylova et al.) Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на территории России // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49. № 4. С. 257–261.

Racial Composition and Variability of the *ToxA* Gene in Geographically Distant Populations of *Pyrenophora tritici-repentis*

N. V. Mironenko^{a, #}, A. S. Orina^{a, ##}, N. M. Kovalenko^{a, ###}, and N. G. Zubko^{a, ####}

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

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

^{##} e-mail: orina-alex@yandex.ru

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

^{####} e-mail: sacura0@yandex.ru

Pyrenophora tritici-repentis causing the tan spot of wheat produces specific necrotrophic effectors *Ptr ToxA*, *Ptr ToxB* and *Ptr ToxC*, inducing necrosis and chlorosis on the leaves of susceptible varieties. Based on the ability of *P. tritici-repentis* strains to produce specific necrotrophic effectors or their combinations, the eight races of the pathogen are distinguished. Monitoring the race composition of *P. tritici-repentis* populations is necessary to assess the evolutionary potential of the pathogen and develop a methodology for breeding wheat cultivars with long-term resistance. We analyzed 179 monoconidial *P. tritici-repentis* strains from Kazakhstan and Russia populations in 2020–2022. The widespread distribution of races 2 and 4 was revealed, strains of which were present in each analyzed *P. tritici-repentis* population with a frequency of 2–36% and 7–82%, respectively. The dominance of avirulent race 4 was noted: the strains of this race accounted for 27% of all analyzed *P. tritici-repentis* strains. Molecular identification of the *ToxA* and *ToxB* genes, as well as *toxb*, a homolog of the *ToxB* gene, in 118 *P. tritici-repentis* strains from six populations revealed the presence of the *ToxA* gene in 69% of the analyzed strains. The *ToxB* gene was not detected in any strains, while the *toxb* gene was found sporadically and was identified in the genome of 18 *P. tritici-repentis* strains (9%), most of which were avirulent and belonged to race 4. In PCR with specific primers for *ToxA* gene of ten *P. tritici-repentis* strains a product of ~ 800 bp was amplified, which turned out to be significantly larger than expected. This was explained by the presence of an insertion in the amplified region of the *ToxA* gene. All *P. tritici-repentis* strains with the *ToxA* were assigned to races 4 and 5, which do not form the necrotrophic effector *Ptr ToxA*. The structure of the *ToxA* gene and its protein product is the subject of further research.

Keywords: insertion, race 3, race 4, race 5, tan spot, *ToxA*, *ToxB*, *toxb*.

УДК 582.28(092)

ПАМЯТИ ЛИДИИ ВАСИЛЬЕВНЫ ГАРИБОВОЙ (1933–2024) In Memoriam. Lidiya Vasilyevna Garibova (1933–2024)



8 апреля 2024 г. нас покинула Лидия Васильевна Гарибова, профессор кафедры микологии и альгологии, заслуженный профессор МГУ. Более 70 лет отдала Лидия Васильевна кафедре микологии и альгологии, где активно работала до своих последних дней. Ее помнят многие поколения студентов, аспирантов, сотрудников биофака МГУ. Благодаря ее деятельности на кафедре сформировалась научная школа по изучению культивируемых грибов. Лидия Васильевна хорошо известна и практикам-грибоводам, многие из которых благодаря ей освоили современные технологии выращивания грибов. Она разработала ряд лекционных и практических курсов. Ее перу принадлежит большое количество крайне востребованных книг: популярных, учебных и научных. Лидия Васильевна

подготовила более 20 кандидатов и двух докторов биологических наук. За научную и педагогическую деятельность награждена высшей профессиональной наградой микологов — медалью им. А.А. Ячевского, учрежденной Национальной Академией Микологии.

Лидия Васильевна Гарибова была одним из столпов кафедры, хранителем традиций, человеком мудрым, поддерживающим теплые отношения как с коллегами на кафедре, так и многими отечественными микологами, воспитала плеяду достойных учеников.

Светлая память о ней навсегда будет с нами.

Кафедра микологии и альгологии МГУ, редколлегия журнала “Микология и фитопатология”, коллеги, друзья, ученики.