

ISSN 0026-3648

Том 57, Номер 2

Март - Апрель 2023



# МИКОЛОГИЯ И ФИТОПАТОЛОГИЯ



[www.sciencejournals.ru](http://www.sciencejournals.ru)



# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 57, номер 2, 2023

---

---

## БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

Новые находки представителей *Archaeorhizomycetes* на территории России на основании результатов метагеномного анализа

*Н. М. Бибиков, Е. Ю. Воронина, А. В. Кураков* 79

Дискомицеты Ливадийского хребта (Приморский край, Россия)

*А. В. Богачева* 86

---

## ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ

Исследование тромболитического потенциала экзопротеиназ, образуемых микромицетом *Tolyrocladium inflatum* 62a, выделенным из грунтов Белого моря

*Н. С. Фокичев, Е. И. Корниенко, В. Г. Крейер, А. А. Осмоловский* 95

Анализ структуры *matA* локуса половой совместимости у съедобного базидиального гриба *Pleurotus ostreatus*

*А. В. Шнырева, А. А. Шнырева* 104

---

## ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

Фитохром-зависимая регуляция устойчивости дыни к поражению фузариозным вилтом

*И. Г. Ахмеджанов, М. М. Хотамов, Ф. К. Ганиев, Е. Е. Лян* 113

Микобиота клубней картофеля

*А. Ф. Белосохов, М. М. Яремеева, С. М. Миславский, М. Л. Курчаев, А. М. Долгов, Г. П. Албантов, Д. Н. Скоков, А. А. Цинделиани, Л. Ю. Кокаева, Е. М. Чудинова, С. Н. Еланский* 123

Эффективность использования энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii* против ризоктониоза картофеля

*Е. М. Шалдяева, Ю. В. Пилипова, О. Г. Томилова, В. В. Глунов* 134

---

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Микромицеты России: географические и таксономические заметки. 5. *Pseudocercospora filipendulae* (*Mycosphaerellales, Ascomycota*) – новая находка для Санкт-Петербурга (Россия)

*И. В. Змитрович* 141

---

## ХРОНИКА

К 70-летию Юрия Капитоновича Новожилова

*И. В. Землянская, А. В. Власенко* 144

---

Алфавитный указатель авторов тома 56, “Микология и фитопатология”

147

---

---

# Contents

---

---

Vol. 57, No. 2, 2023

---

---

## BIODIVERSITY, TAXONOMY, ECOLOGY

- New records of *Archaeorhizomycetes* from Russia revealed by metagenomic approach  
*N. M. Bibikov, E. Yu. Voronina, A. V. Kurakov* 79
- Discomycetes of the Livadiysky ridge (Primorye Territory, Russia)  
*A. V. Bogacheva* 86
- 

## PHYSIOLOGY, BIOCHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY

- Investigation of the thrombolytic potential of exoproteinases produced by the micromycete *Tolypocladium inflatum* 62A isolated from the soils of the White Sea  
*N. S. Fokichev, E. I. Kornienko, V. G. Kreyer, A. A. Osmolovskiy* 95
- Structure analysis of the *matA* locus of sexual compatibility in the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*  
*A. V. Shnyreva, A. A. Shnyreva* 104
- 

## PHYTOPATHOGENIC FUNGI

- Phytochrome-dependent regulation of melon resistance to *Fusarium* wilt  
*I. G. Akhmedzhanov, M. M. Khotamov, F. K. Ganiev, E. E. Lyan* 113
- Fungal biodiversity of potato tubers  
*A. F. Belosokhov, M. M. Yarmeeva, S. M. Mislavsky, M. L. Kurchaev, A. M. Dolgov, G. P. Albantov, D. N. Skokov, A. A. Tsindeliani, L. Yu. Kokaeva, E. M. Chudinova, S. N. Elansky* 123
- Efficiency of the use of entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against potato rhizoctoniosis  
*E. M. Shaldyaeva, Yu. V. Pilipova, O. G. Tomilova, V. V. Glupov* 134
- 

## SHORT COMMUNICATIONS

- Micromycetes Rossicae: chorological and taxonomical notes. 5. *Pseudocercospora filipendulae* (*Mycosphaerellales, Ascomycota*) – new find for Saint Petersburg (Russia)  
*I. V. Zmitrovich* 141
- 

## CHRONICLE

- To the 70-th Anniversary of Yuriy Kapitonovich Novozhilov  
*I. V. Zemlyanskaya, A. V. Vlasenko* 144
- 

- Authors index 147
- 
-

УДК 574.472

## NEW RECORDS OF *ARCHAEORHIZOMYCETES* FROM RUSSIA REVEALED BY METAGENOMIC APPROACH

© 2023. N. M. Bibikov<sup>1,\*</sup>, E. Yu. Voronina<sup>1,\*\*</sup>, and A. V. Kurakov<sup>1,\*\*\*</sup><sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia

\*e-mail: bibik0808@mail.ru

\*\*e-mail: mvsadnik@list.ru

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

Received December 13, 2022; revised December 18, 2022; accepted December 23, 2022

The class *Archaeorhizomycetes* (*Taphrinomycotina*, *Ascomycota*) is a cosmopolitan group of fungi associated with the plant root system. Representatives of this class are extremely poorly studied due to the difficulty of cultivation, but sequences belonging to *Archaeorhizomycetes* are often detected during sequencing of natural substrates. Four unique sequences belonging to *Archaeorhizomycetes* were obtained during a study of the diversity of fungi associated with the orchid *Goodyera repens* by next-generation high-throughput sequencing of the ITS2 site. One sequence identical to *Archaeorhizomyces borealis* was identified in Russia for the first time, while two sequences presumably belong to a yet undescribed genus. One sequence belonging to an undescribed species of the genus *Archaeorhizomyces* is the most frequently detected in all types of samples (sod-podzolic soil, coniferous tree roots, rhizosphere, and orchid roots). The presence of nucleotide sequences of representatives of this class in the root system of *Goodyera repens* was shown for the first time, and the presence of one sequence in free soil was shown for the first time. The sequences were deposited in the GenBank database.

**Keywords:** *Archaeorhizomyces borealis*, environmental sequencing, ITS2, OTUs

**DOI:** 10.31857/S0026364823020058, **EDN:** NIEPKA

### INTRODUCTION

Class *Archaeorhizomycetes* Rosling et T.Y. James (*Taphrinomycotina*, *Ascomycota*) was coined in 2011 and currently comprises a single order *Archaeorhizomycetales* with a monotypic family *Archaeorhizomycetaceae* presented by *Archaeorhizomyces* genus with only two known species, *A. finlayi* Rosling et T.Y. James and *A. borealis* Menkis, T.Y. James et Rosling (Menkis et al., 2014). Both species were revealed in pine roots, but did not produce recognizable mycorrhizal structures (Rosling et al., 2011; Menkis et al., 2014). Despite of small number of species described, direct sequencing and metagenomic approaches applied to environmental samples often allow to detect archaeorhizomycete OTUs (operational taxonomic units) thus implying high hidden diversity within the class (Taylor et al., 2014; Schadt, Rosling, 2015).

*Archaeorhizomycetes* species are supposed to be globally distributed with higher abundance in boreal forests (Rosling et al., 2013). Some archaeorhizomycete OTUs were recently recorded from the Subarctic (Miyamoto et al., 2022). These fungi are considered to be associated with ectomycorrhizal tree roots, but their OTUs are detected either in bulk soil (Prenafeta Boldú et al., 2014) or non-ectomycorrhizal plants, e.g. *Orchidaceae*, roots too (Qin et al., 2019). Orchid mycobionts are known to form mycorrhizal networks linking orchid

plants to neighboring trees thus providing nutrient sharing (Genre et al., 2020). This implies some common mycobionts shared between ectomycorrhizal trees and orchids and allows assuming *Archaeorhizomycetes* association with orchids' roots too. Revealing of *Archaeorhizomycetes* in roots of *Orchidaceae* species typical for boreal forests, such as *Goodyera repens* (L.) R. Br. can contribute to more full recognition of archaeorhizomycete ecology.

Currently, eight archaeorhizomycete sequences from Russian territory are available in GenBank database, and four of them are resulted from this study. According to data on biodiversity retrieved from UNITE, there are no confirmed records on *Archaeorhizomycetes* from Russia but they are presented for a number of both North and South European countries (Fig. 1). Besides, *Archaeorhizomyces* OTUs have been reported from North America, Africa, Eastern and South-Eastern Asia and Australia.

Considering wide distribution, understudied ecology and physiology, lacking data on distribution in Russia, and potential significance of *Archaeorhizomycetes* for forest ecosystem performance, the study was aimed at revealing the biodiversity of this taxon and its occurrence estimation in different habitats within pine forest with spruce: *Goodyera repens* roots and rhizosphere, conifer roots and bulk soil.



**Fig. 1.** *Archaeorhizomyces* records in Europe according to UNITE (Kõljalg et al., 2020). Blue marks indicate defined localities; red marks point the countries for which OTUs are available.

## MATERIALS AND METHODS

**Sampling and sample preparation.** Environmental sampling was carried out in November 2021 at the territory of MSU Zvenigorod biological station (MSU ZBS, Moscow Region, Russia) in conifer forest dominated by *Pinus sylvestris* and *Picea abies* underlied by podzol soil. In total 22 samples (from 11 habitats with two replicas) were collected and analyzed (Table 1).

Plant roots were freed from adjacent soil particles by rinsing in water and surface sterilized by serial dipping in 70% ethanol, surfactant, and amoxicillin solution. Prepared samples were stored at 4°C until were analyzed.

**Amplification and metagenom analysis.** Environmental DNA was extracted by means of FastDNA SPIN Kit (MP), ITS2 region was amplified with NR\_5.8SR (forward) and NR ITS4R (reverse) primers. Real-time PCR and genomic library construction were accomplished using a CFX96 Touch (Bio-Rad) amplifier. Next-generation sequencer Illumina MiSeq generating more than 5000 reads per sample was applied for genome library analysis. The analysis was carried out by BioSpark Company (Troitsk, Moscow Region).

**Data procession.** QIIME 1.9.1 algorithm was employed for sequence segregation, forward and reverse read consolidation and chimeric sequence removal. Taxonomy of OTUs revealed was established according to references from UNITE and GenBank databases. Samples were compared, and OTUs were subset into classes of occurrence by means of quartile analysis made with Microsoft Excel. Sequence processing, phylogenetic trees construction, and sequence deposition into GenBank was accomplished with MEGA-X.

## RESULTS AND DISCUSSION

To explore fungal biodiversity 11 samples with two replicas from sites with *Goodyera repens* plants at the territory of MSU ZBS was subjected to metagenom analysis by high-throughput sequencing.

### *Archaeorhizomyces* diversity on the territory of Russia

Four different archaeorhizomycete OTUs, named A1, A8, A10 and A12, were detected. Two OTUs were identified as “*Archaeorhizomyces*”, two were ascribed to *Archaeorhizomyces* genus, and one of them demonstrated conspecificity with *Archaeorhizomyces borealis*. All sequences were deposited into GenBank (Table 2).

There are eight archaeorhizomycete sequences from Russia available in GenBank up to date. Five OTUs are known from samples collected in the Moscow Region (MSU ZBS), four of them are revealed within this study. One OTU conspecific with *A. finlayi* derived from Leningrad Region (Nizhnesvirsky Nature Reserve), *Archaeorhizomyces* sp. OTU was revealed in Sakha Republic (Chokurdakh village proximities), and *Archaeorhizomyces* gen. sp. ined. OTU originated from Karachay-Cherkess Republic (Teberda Nature Reserve). All OTUs were revealed in conifer root or conifer forest soil samples: *Pinus* and *Picea* for Moscow Region, *Pinus* for Leningrad Region, *Larix* for Sakha Republic, and soil for Karachay-Cherkess Republic. OTUs A1, A8, A10 and A12 were detected in *Goodyera repens* roots, and A1 and A8 were revealed in soil samples too (Table 3).

Phylogenetic analysis was applied to clarify relationship between archaeorhizomycete taxa represented by OTUs revealed and previously known for Russian territory. The results were visualized as a maximum-likelihood cladogram with 1000-fold bootstrap-test based on the sequences aligned according to MAFFT

**Table 1.** Sample sites characteristics

Site N	Coordinates	Sample types
1	55.691680 N; 36.715776 E	bulk soil <sup>2*</sup> , conifer roots <sup>2</sup> , <i>Goodyera repens</i> roots <sup>2</sup> and rhizosphere <sup>2</sup>
2	55.691485 N; 36.714948 E	bulk soil <sup>2</sup> , <i>G. repens</i> roots <sup>2</sup> and rhizosphere <sup>2</sup>
3	55.694775 N; 36.739656 E	bulk soil <sup>2</sup> , conifer roots <sup>2</sup> , <i>G. repens</i> roots <sup>2</sup> and rhizosphere <sup>2</sup>

\*Number of samples collected.

**Table 2.** Archaeorhizomycete OTUs revealed

OTU	Taxon	GenBank accession number
A1	<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	ON819605.1
A8	<i>Archaeorhizomyces borealis</i>	ON714642.1
A10	<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. ined.	ON819606.1
A12	<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. ined.	ON819607.1

algorithm. *Archaeorhizomyces borealis* (NR\_126144.2) from Lithuania (Menkis et al., 2014) was included too. *Taphrinomycotina* species from *Neoelectomyces* (*Neoelecta vitellina* FJ171855.1), *Taphrinomyces* (*Taphrina carpini* NR\_119488.1), *Schizosaccharomyces* (*Schizosaccharomyces pombe* OW983270.1), and *Pneumocystidomycetes* (*Pneumocystis carinii* U07226.1) were chosen for outgroup (Fig. 2).

The sequences analyzed demonstrated *Archaeorhizomyces* affinity forming a monophyletic group within *Taphrinomycotina*. A8 turned out to be conspecific with *A. borealis* (NR\_126144.2). This is the first confirmed report of the species from the territory of Russia. *A. finlayi* from Leningrad Region comprises the sister clade to *A. borealis*. A1 sequence is identical to *Archaeorhizomyces* sp. (MH248043.1) formerly reported for Moscow Region (Voronina et al., 2018) and is close to *Archaeorhizomyces* sp. (LC574773.1, Sakha Republic). A10 and A12 represent a separate clade rather distant from the other taxa. Besides, A12 OTU is identical to OP750444.1 (Karachay-Cherkess Republic, not included).

According to references, A1 sequence can be ascribed to some unknown *Archaeorhizomyces* species, A8 conspecific with *A. borealis*; and A10 and A12, clustered together and standing apart from other taxa, can

be identified only as *Archaeorhizomyces* members, and presumably represent species from some other than *Archaeorhizomyces* genus.

### Global distribution of archaeorhizomycete taxa matching OTUs revealed

Reference sequences for OTUs revealed (GenBank, 100% overlap and match) were studied to define its global distribution. For *Archaeorhizomyces* sp. A1 7 references meeting the conditions were found. They all are reported from Europe (Finland, Sweden, the Netherlands) or European Russia (Moscow Region) conifer forests. OTU was detected in conifer roots, but also in roots of other plants typical for boreal forests, such as *Goodyera repens* and *Vaccinium myrtillus* (Table 4).

*Archaeorhizomyces borealis* (A8) matched 24 suitable references. The species is known from the north of Moscow Region, Lithuania, Scotland and Austria (*Pinus sylvestris* roots), Portugal (*P. pinaster* roots), Japan (*P. densiflora* and *Castanopsis cuspidata* roots), Chinese provinces Guizhou, Jiangsu and Hunan (*Pinus* sp., *P. tabulaeformis* and *P. massoniana* roots accordingly). Besides, the species was revealed in bottom soil of Indian Ocean near Sumatra at the more than 4000 m depth (Table 4).

Only one reference was found for A10, the sequence was obtained from conifer forest soil sample (Table 4).

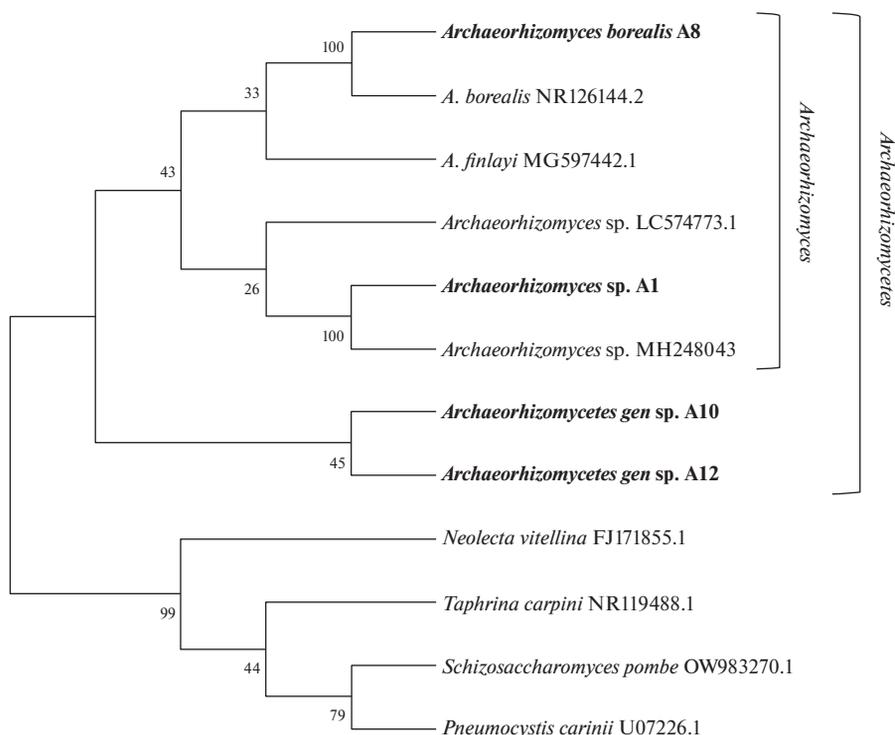
A12 OTU is identical to OP750444.1 revealed in conifer forest soil in Teberda Nature Reserve (Karachay-Cherkess Republic) (Table 4).

No matching references were revealed for LC574773.1 (Sakha Republic) and MG597442.1 (Leningrad Region).

Thus *Archaeorhizomyces* sp. A1 is known from conifer forests of Northern Europe, and *A. borealis* A8 has wider distribution and is reported from conifer forests

**Table 3.** Archaeorhizomycete diversity in Russia based on GenBank data

Taxon	GenBank accession number	Sample origin	Sample type	Reference
<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	LC574773.1	Sakha Republic	<i>Larix gmelinii</i> roots	Miyamoto et al. (2022)
<i>A. finlayi</i>	MG597442.1	Leningrad Region	<i>Pinus sylvestris</i> roots	Malysheva et al. (2018)
<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. ined.	OP750444.1	Karachay-Cherkess Republic	Conifer forest soil	—
<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	MH248043.1	Moscow Region	<i>Picea abies</i> and, <i>Pinus sylvestris</i> roots	Voronina et al. (2018)
<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	ON819605.1		<i>Picea abies</i> , <i>Pinus sylvestris</i> , and <i>Goodyera repens</i> roots; conifer forest soil	current study
<i>A. borealis</i>	ON714642.1			
<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. ined.	ON819606.1, ON819607.1		<i>Picea abies</i> , <i>Pinus sylvestris</i> , and <i>Goodyera repens</i> roots	



**Fig. 2.** Phylogeny of OTUs revealed and *Archaeorhizomyces* taxa known from Russia. OTUs revealed in the current research are marked in bold.

of both Northern and Southern Europe up to Japan and Southern China, and inhabits broadleaved forests too.

#### OTUs occurrence at the study site

Metagenomic approach allows not only to reveal taxonomic diversity, but also to estimate the occurrence of OTUs detected. The quartile analysis was applied to raw data obtained, and all OTUs were ranked and ascribed to one of categories followed: I (minor), II (rare), III (frequent), and IV (dominant taxa). For revealed archaeorhizomycete taxa occurrence ranks in samples studied see Table 5.

*Archaeorhizomyces* sp. A1 was detected in 10 of 11 habitats studied. In 9 samples A1 belongs to dominant taxa, in one *Goodyera repens* rhizosphere sample it is frequent, and it is absent from one soil habitat. *Archaeorhizomyces borealis* A8 was revealed in 5 habitats. The species is dominant in two soil samples, is frequent in one *Goodyera repens* rhizosphere sample, and represents minor element in fungal community of two *G. repens* root samples. *Archaeorhizomyces borealis* was not found in conifer roots samples. A10 OTU was detected in 3 habitats, always in association with plant roots: as a dominant species in one conifer roots sample, and as a rare or minor species in two *Goodyera repens* root samples. A12 OTU was registered in 3 samples: as a rare species in a conifer roots sample and a *G.*

*repens* root sample, and as a frequent species in a *G. repens* rhizosphere sample.

#### CONCLUSION

Four archaeorhizomycete OTUs were revealed by metagenomic approach in the samples collected in the conifer forest at the territory of MSU ZBS. Phylogeny of taxa revealed is presented as a cladogram, global distribution and occurrence are discussed.

OTU A1 is ascribed to an unknown species of *Archaeorhizomyces*. Matching sequences were detected in boreal conifer forests, and revealed at MSU ZBS territory previously (Voronina et al., 2018). A1 is the most frequent archaeorhizomycete species at the study site, the OTU revealed in 9 of 11 habitats. In bulk soil in Russia and in *G. repens* roots it was found for the first time. With the high occurrence and predisposition to plant roots this species can possibly have yet unrevealed symbiotic function probably related to conifer ectomycorrhiza.

OTU A8 is conspecific with *Archaeorhizomyces borealis*. This species is known both from Northern and Southern Europe and Asia up to south of China and Sumatra coast. *A. borealis* was revealed not only in conifer roots, but also in roots of broadleaved mycorrhizal tree *Castanopsis cuspidata*. This tree species shares its habitat with *Pyrola japonica*, a mixotrophic pyroloid with similar to *Orchidaceae* strategy to establish common mycorrhizal networks with ectomycorrhizal trees

**Table 4.** GenBank references matching revealed OTUs

Taxon	GenBank accession number	Sample origin	Sample type	Reference
<i>Archaeorhizomyces</i> sp. A1 (ON819605.1)				
<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	MH248043.1	Moscow Region	<i>Picea abies</i> and <i>Pinus sylvestris</i> roots	Voronina et al. (2018)
no data	JN032485.1	Sweden	<i>Pinus sylvestris</i> roots	Lindahl et al. (2007)
	JQ312829.1		<i>Picea abies</i> roots	Menkis et al. (2012)
	HM069407.1	Finland	<i>Pinus sylvestris</i> roots	–
	HQ873359.1	the Netherlands	Soil	Prenafeta Boldú et al. (2014)
	JN006468.1	–	<i>Pinus sylvestris</i> roots	Rosling et al. (2011)
	DQ309123.1	–	<i>Vaccinium myrtillus</i> roots	–
<i>Archaeorhizomyces borealis</i> A8 (ON714642.1)				
<i>A. borealis</i>	MW793985.1, MW793987.1, MW793988.1	Lithuania	<i>Pinus sylvestris</i> roots	Motiejūnaitė et al. (2021)
	DQ068979.1, NR_126144.2			Menkis et al. (2014)
<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	MW793931.1			Motiejūnaitė et al. (2021)
No data	MW793990.1, MW793915.1			
	MW215135.1		–	–
	FN811925.1	Scotland	<i>P. sylvestris</i> roots	–
	GQ205364.1, HQ625454.1	Portugal	<i>P. pinaster</i> roots	Buscardo et al. (2012)
	EU046019.1, EU046062.1, EU046087.1	Austria	<i>P. sylvestris</i> roots	Urban et al. (2008)
<i>A. borealis</i>	MT522544.1, MT678866.1	China, Guizhou	<i>Pinus</i> sp. roots	–
no data	AB873202.1	China, Jiangsu	<i>Pinus tabulaeformis</i> roots	–
	AB769883.1	China, Hunan	<i>P. massoniana</i> roots	Huang et al. (2014)
	LC096916.1, LC096889.1	Japan, Aichi	<i>Castanopsis cuspidata</i> roots	Uesugi et al. (2016)
	KJ173584.1	Indian Ocean	bottom soil	Zhang et al. (2014)
	JN006466.1, JN032575.1	–	conifer forest soil	Rosling et al. (2011)
<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. A10 (ON819606.1)				
No data	JN032571.1	–	conifer forest soil	Rosling et al. (2011)
<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. A12 (ON819607.1)				
<i>Archaeorhizomyces</i> gen. sp. ined.	OP750444.1	Karachay-Cherkess Republic	conifer forest soil	–

**Table 5.** Archaeorhizomycete OTUs occurrence (quartiles) in samples studied

Sample	<i>Goodyera repens</i> roots			<i>G. repens</i> rhizosphere			Conifer roots		Bulk soil		
	1	2	3	1	2	3	1	3	1	2	3
A1	IV	IV	IV	IV	IV	III	IV	IV	–	IV	IV
A8	I	–	I	III	–	–	–	–	–	IV	IV
A10	I	–	II	–	–	–	IV	–	–	–	–
A12	–	–	I	–	–	III	–	I	–	–	–

(Uesugi et al. 2016; Suetsugu et al., 2021). Wide distribution of *Archaeorhizomyces borealis* and high diversity of substrates occupied along with the shown ability for asymbiotic growth (Menkis et al. 2014) indicate this species as ubiquitous. On the territory of Russia it was revealed in *Goodyera repens* roots for the first time.

OTUs A10 and A12 were reported from Russia for the first time. They were also detected in association with *G. repens* roots. Currently it is impossible to define distribution of these taxa due to lack of data. These OTUs comprise a separate clade probably representing the second yet undescribed genus within *Archaeorhizomycetes*. At present they cannot be identified other than species belonging to the class mentioned.

The study presented broadens current recognition of biodiversity and ecology of *Archaeorhizomycetes* at the territory of Russia. The detection of provisional genus requires further global inventory to contribute to knowledge on biodiversity of this ubiquitous and abundant but critically understudied fungal group. *Archaeorhizomycetes* are not known to form mycorrhizas, but their regular presence in roots of mycorrhizal plants engaged in shared mycelial networks (conifers, orchids etc.) indicates their potential to contribute somehow to common nutrient transfer between plants and requires more research to enlighten their real ecological roles in forest communities.

The study was financially supported by Russian Federation Ministry of Science and Higher Education (project № 075-15-2021-1396).

## REFERENCES

- Buscardo E., Rodríguez-Echeverría S., Barrico L. et al. Is the potential for the formation of common mycorrhizal networks influenced by fire frequency? *Soil Biol. Biochem.* 2012. V. 46. P. 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.12.007>
- GenBank. National Center for Biotechnology Information, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>. Accessed 14.10.2022.
- Genre A., Lanfranco L., Perotto S. et al. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020. V. 18 (11). P. 649–660. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0402-3>
- Huang J., Nara K., Zong K. et al. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana*) and white oak (*Quercus fabri*) in a manganese mining region in Hunan Province, China. *Fungal Ecol.* 2014. V. 9. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.01.001>
- Kõljalg U., Nilsson H.R., Schigel D. et al. The taxon hypothesis paradigm – on the unambiguous detection and communication of taxa. *Microorganisms.* 2020. V. 8 (12). P. 1910. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121910>
- Lindahl B.D., Ihrmark K., Boberg J. et al. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytol.* 2007. V. 173 (3). P. 611–620. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01936.x>
- Malysheva E.F., Malysheva V.F., Shchepin O.N. et al. Wildfire influence on structure and species composition of ectomycorrhizal fungal communities in pine forests in northwest Russia: the results of metagenomic analysis. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2018. V. 52 (5). P. 328–348. <https://doi.org/10.1134/S0026364818050057>
- Menkis A., Burokienė D., Gaitnieks T. et al. Occurrence and impact of the root-rot biocontrol agent *Phlebiopsis gigantea* on soil fungal communities in *Picea abies* forests of northern Europe. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012. V. 81 (2). P. 438–445. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01366.x>
- Menkis A., Urbina H., James T.Y. et al. *Archaeorhizomyces borealis* sp. nov. and a sequence-based classification of related soil fungal species. *Fungal Biol.* 2014. V. 118 (12). P. 943–955. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.08.005>
- Miyamoto Y., Maximov T.C., Kononov A. et al. Soil propagule banks of ectomycorrhizal fungi associated with *Larix cajanderi* above the treeline in the Siberian Arctic. *Mycoscience.* 2022. V. 63 (4). P. 142–148. <https://doi.org/10.47371/mycosci.2022.05.002>
- Motiejūnaitė J., Kačergius A., Kasparavičius J. et al. Response of ectomycorrhizal and other *Pinus sylvestris* root-associated fungi to the load of allochthonous material from a great cormorant colony. *Mycorrhiza.* 2021. V. 31 (4). P. 471–481. <https://doi.org/10.1007/s00572-021-01034-5>
- Prenafeta Boldú F.X.P., Summerbell R.C., de Boer W. et al. Biodiversity and ecology of soil fungi in a primary succession of a temperate coastal dune system. *Nova Hedwigia.* 2014. V. 99 (3–4). P. 347–372. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2014/0203>
- Qin J., Zhang W., Ge Z.W. et al. Molecular identifications uncover diverse fungal symbionts of *Pleione* (*Orchidaceae*). *Fungal Ecol.* 2019. V. 37. P. 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.10.003>

- Rosling A., Cox F., Cruz-Martinez K. et al. *Archaeorhizomycetes*: unearthing an ancient class of ubiquitous soil fungi. *Science*. 2011. V. 333 (6044). P. 876–879. <https://doi.org/10.1126/science.1206958>
- Rosling A., Timling I., Taylor D.L. *Archaeorhizomycetes*: patterns of distribution and abundance in soil. In: B.A. Horwitz, P.K. Mukherjee, M. Mukherjee (eds). *Genomics of soil- and plant-associated fungi*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013. P. 333–349. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-39339-6\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-642-39339-6_14)
- Schadt C.W., Rosling A. Global diversity and geography of soil fungi. Minus one widespread group. *Science*. 2015. V. 348 (6242). <https://doi.org/10.1126/science.aaa4269>
- Suetsugu K., Matsuoka S., Shutoh K. et al. Mycorrhizal communities of two closely related species, *Pyrola subaphylla* and *P. japonica*, with contrasting degrees of mycoheterotrophy in a sympatric habitat. *Mycorrhiza*. 2021. V. 31 (2). P. 219–229. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-01002-5>
- Taylor D.L., Hollingsworth T.N., McFarland J.W. et al. A first comprehensive census of fungi in soil reveals both hyperdiversity and fine-scale niche partitioning. *Ecol. Monogr*. 2014. V. 84. P. 3–20. <https://doi.org/10.1890/12-1693.1>
- Uesugi T., Nakano M., Selosse M.A. et al. *Pyrola japonica*, a partially mycoheterotrophic Ericaceae, has mycorrhizal preference for russulacean fungi in central Japan. *Mycorrhiza*. 2016. V. 26 (8). P. 819–829. <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0715-2>
- UNITE. 2022. <https://unite.ut.ee/index.php>. Accessed 14.10.2022.
- Urban A., Puschenreiter M., Strauss J. et al. Diversity and structure of ectomycorrhizal and co-associated fungal communities in a serpentine soil. *Mycorrhiza*. 2008. V. 18 (6). P. 339–354. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0189-y>
- 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*. *Botanica Pacifica*. 2018. V. 7 (1). P. 51–61. <https://doi.org/10.17581/bp.2018.07106>
- Zhang X.Y., Tang G.L., Xu X.Y. et al. Insights into deep-sea sediment fungal communities from the East Indian Ocean using targeted environmental sequencing combined with traditional cultivation. *PLOS One*. 2014. V. 9 (10). P. 109–118. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109118>

## Новые находки представителей *Archaeorhizomycetes* на территории России на основании результатов метагеномного анализа

Н. М. Бибиков<sup>a, #</sup>, Е. Ю. Воронина<sup>a, ##</sup>, А. В. Кураков<sup>a, ###</sup>

<sup>a</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>#</sup>e-mail: [bibik0808@mail.ru](mailto:bibik0808@mail.ru)

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

<sup>###</sup>e-mail: [kurakov57@mail.ru](mailto:kurakov57@mail.ru)

Класс *Archaeorhizomycetes* (*Taphrinomycotina*, *Ascomycota*) представляет собой космополитную группу грибов, ассоциированных с корневой системой растений. Представители этого класса крайне мало изучены в силу трудности культивирования, однако при секвенировании природных субстратов нередко выявляются относящиеся к *Archaeorhizomycetes* последовательности. В ходе исследования разнообразия грибов, ассоциированных с орхидеей *Goodyera repens*, методом высокопроизводительного секвенирования нового поколения по участку ITS2 получены четыре уникальные последовательности, относящиеся к классу *Archaeorhizomycetes*. Одна последовательность, идентичная *Archaeorhizomyces borealis*, выявлена на территории России впервые, две последовательности предположительно относятся к еще не описанному роду. Одна последовательность, относящаяся к неопisanному виду рода *Archaeorhizomyces*, является наиболее часто обнаруживаемой во всех типах образцов (дерново-подзолистой почве, корнях хвойных деревьев, ризосфере и корнях орхидеи). Впервые было показано наличие нуклеотидных последовательностей представителей этого класса в корневой системе *Goodyera repens*, впервые показано присутствие одной последовательности в свободной почве. Последовательности депонированы в базу данных GenBank.

**Ключевые слова:** секвенирование природных субстратов, *Archaeorhizomyces borealis*, ITS2, OTUs

УДК 630.181: 582.282.13(571.6)

## ДИСКОМИЦЕТЫ ЛИВАДИЙСКОГО ХРЕБТА (ПРИМОРСКИЙ КРАЙ, РОССИЯ)

© 2023 г. А. В. Богачева<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, 690022 Владивосток, Россия

\*e-mail: bogacheva@biosoil.ru

Поступила в редакцию 17.02.2022 г.

После доработки 05.07.2022 г.

Принята к публикации 07.11.2022 г.

В статье представлены результаты ревизии коллекции дискомицетов, обнаруженных в растительных сообществах подгольцового пояса Ливадийского хребта. Хребет располагается на юге Приморского края и характеризуется как участок с хорошо сохранившейся южной коренной дальневосточной растительностью в нижнем его поясе. В объеме изученных 118 образцов было установлено 62 вида, среди которых как широкораспространенные, так и новые для Приморского края. На сегодняшний день известно, что в растительных сообществах Ливадийского хребта встречаются 79 видов дискомицетов. Перечень известных в составе микобиоты Приморского края видов был дополнен пятью таксонами, из которых три – новые для дальневосточного региона России (*Ciborinia candolleana*, *Paragalactinia michelii*, *Sphaerosporella hinnulea*). Для ряда редких видов отмечены новые местонахождения. Так, вторая точка сбора в крае была указана для *Cenangium ferruginosum* (на валежной древесине *Quercus mongolica*) и для *Sclerencoelia fascicularis* (на валежной древесине *Populus* sp.).

**Ключевые слова:** Дальний Восток России, микобиота, *Ciborinia*, *Paragalactinia*, *Sclerencoelia*, *Sphaerosporella*

**DOI:** 10.31857/S002636482302006X, **EDN:** NILSMD

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение дальневосточной микобиоты ведется уже не один десяток лет. Вместе с тем, еще достаточно неисследованных районов. Это не только труднодоступные территории, но и близлежащие к городской инфраструктуре. Так, Ливадийский хребет – одно из часто посещаемых мест южного Приморья – фактически не изучено в микологическом отношении. Сведения об отмеченных здесь видах фрагментарны и касаются информации в основном о базидиальных грибах (Nazarova, 1978; Lower plants., 1990; Govorova, 1998, 2002). Данные о 20 видах иноперкулятных дискомицетов, собранных на Ливадийском хребте, приводятся в одном из томов сводки “Низшие растения, грибы и мохообразные советского Дальнего Востока” (Raitviir, 1991). На гниющей древесине хвойных и лиственных пород в середине 1970-х гг. М.М. Назарова и А.Г. Райтвийр собрали четыре вида из семейства *Lachnaceae* и два – из *Orbiliaceae* [*Mitrula borealis* Redhead и *Incrucipulum ciliare* (Schröd. ex J.F. Gmel.) Baral, оба на листовом опаде]. Обширная группа из 10 видов гиалосцифовых грибов была собрана ими на отмерших стеблях дольчатых растений и два вида – на злаках.

Нами был накоплен дополнительный материал с этой территории. Результаты вошли в доктор-

скую диссертацию (Bogacheva, 2009) и теперь подготовлены для публикации с учетом современных воззрений на объем и место отмеченных таксонов в системе аскомицетов (Index Fungorum, 2022).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ливадийский хребет занимает полуостровное положение между двумя заливами Японского моря – Уссурийским и Находка. Наивысшая точка – гора Ливадийская (Пидан) достигает 1332.6 м над ур. моря. Растительность хребта нижнего пояса характеризуется ботаниками как хорошо сохранившийся участок южной коренной дальневосточной растительности (Kurentsova, 1968; Landscape and vegetation., 2001). Для него характерны ильмовые широколиственные леса, различные типы дубовых и полидоминантных широколиственных лесов с кедром. От подножия к вершинам выделяют пояс кедрово-широколиственных лесов (до 600–700 м над ур. м.) и пояс пихтово-еловых лесов (до 1100–1150 м над ур. м.). Северные склоны покрыты высокогорными ельниками с участками пихтарников и каменноберезников, зарослями кедрового стланика и микобиоты. На южных склонах распространены редкостойные леса из ели аянской, березы каменной и пихты белокопровой (Landscape and vegetation., 2001).

Объектами исследования выступили сумчатые грибы, ранее объединяемые в группу *Discomycetes*. Работа включала ревизию собранных с сороковых годов образцов грибов, хранящихся в фонде Дальневосточного регионального гербария (VLA). Основные сборы были произведены в августе 2002 г. автором на северо-восточном склоне хребта от подножия до подгольцовой его части. Коллекторами в различные годы также выступили А.А. Аблакатова, Е.М. Булах, Л.Н. Васильева, Д.П. Воробьев, Ю.Е. Дочевой, М.М. Назарова, Т.В. Тарасова. Объем материала составил 118 образцов. Его морфометрическое описание было проведено классическими методами (Roskin, Levinson, 1957; Hawksworth, 1974; Baral, 1987a, 1987b, 1992; Barykina et al., 2000) на базе лаборатории ботаники ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН с применением микроскопов Nikon Eclipse E200 и МБИ-10.

Принятые сокращения в аннотированном списке отмеченных на Ливадийском хребте видов: ЕАО (Еврейская Автономная область), зап. (заповедник), Камч. кр. (Камчатский край), Маг. обл. (Магаданская область), нац. (национальный), окр. (окрестности), Прим. кр. (Приморский край), распр. по ДВР (распространение по дальневосточному региону), Сах. обл. (Сахалинская область), Хабар. кр. (Хабаровский край), хв.-шир. (хвойношироколиственный).

Кластерный анализ выполнен с помощью программы PAST (Hammer et al., 2001). В качестве меры сходства использован коэффициент Серенсена–Чекановского (Legendre, Legendre, 1983). Статистическая достоверность образования кластеров была оценена с помощью бутреп-анализа с использованием программы FreeTree (Pavlicek et al., 1999). Оценка бутреп-значений проведена в 1000 повторностях. Из аналитических работ мы исключили 3 вида, отмеченных впервые на территории российского Дальнего Востока, включив данные о видовом разнообразии Ливадийского хребта из литературных источников (Raitviir, 1991). Также не вошли в анализ данные по ряду северных и отдаленных флористических районов дальневосточного региона по причине отсутствия сведений по интересующей нас группе сумчатых грибов (Анадырско-Пенжинский, Даурский, Корякский, Колымский, Нюкжинский и т.д.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ревизия имеющегося гербарного материала показала наличие еще 62 видов сумчатых грибов в растительных сообществах Ливадийского хребта. Ниже дан аннотированный список видов дискомицетов, собранных в растительных сообществах Ливадийского хребта и хранящихся в фондах Дальневосточного регионального гербария. Более детальную информацию об образцах можно полу-

чить по указанным гербарным номерам у сотрудников Гербария.

### *Geoglossomycetes*

#### *Geoglossales*

##### *Geoglossaceae*

*Trichoglossum hirsutum* (Pers.) Boud., на валежной древесине, хв.-шир. лес (D-1436). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-2066), Уссурийский зап. (D-1438); Хабар. кр., Большехехцирский зап. (D-1437).

### *Leotiomycetes*

#### *Helotiales*

##### *Cenangiaceae*

*Chlorenchelia versiformis* (Pers.) J.R. Dixon, на валежной древесине лиственной породы, хв.-шир. лес (D-1918); на валежной древесине хвойной породы, ельник (D-145). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-2091), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1974, D-3798), Уссурийский зап. (D-143, D-147, D-151, D-156, D-1830, D-1841, D-3799), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3862, D-3412, D-3567), Лазовский зап. (D-142D-144, D-148, D-149, D-152, D-153, D-155, D-809, D-1689, D-1695), Сихотэ-Алинский зап. (D-150, D-154, D-3750); Хабар. кр., Большехехцирский зап. (D-4350), окр. г. Комсомольск-на-Амуре (D-4231); Ботчинский зап. (D-3082); ЕАО, зап. Бастак (D-1785, D-1814); Сах. обл., о. Кунашир (D-3321, D-4018), о. Сахалин (D-2078).

*Cenangium ferruginosum* Fr., на валежной древесине *Quercus* sp., хв.-шир. лес (D-2085). Распр. по ДВР России: Прим. кр., зап. Кедровая Падь (D-104).

*Heyderia abietis* (Fr.) Link, на валежных ветвях хвойной породы, ельник (D-3801). Распр. по ДВР России: Хабар. кр., Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4246); Сах. обл., о. Сахалин (D-818, D-3430).

*Encoelia furfuracea* (Roth) P. Karst., на валежной древесине лиственной породы, хв.-шир. лес (D-102). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-103); Хабар. кр., Верхнебуреинский р-н (D-3583), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4251), окр. г. Зейя (D-3525); Сах. обл., о. Матуа (D-4013).

### *Chlorociboriaceae*

*Chlorociboria aeruginascens* (Nyl.) Kanouse, на валежной древесине хвойной породы, ельник (D-112, D-114, D-116). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-113, D-2086, D-2088, D-4157), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-110, D-111, D-3452), Уссурийский зап. (D-108, D-115, D-117, D-118, D-119, D-1730), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3842, D-3901, D-3938, D-3939), Лазовский зап. (D-105, D-107, D-109, D-1564, D-1694, D-2000), Сихотэ-Алинский зап. (D-134, D-1904, D-3746, D-3747, D-3768); Хабар. кр., Большехехцирский зап. (D-2793, D-2799, D-2824, D-2937, D-4349), окр. г. Комсомольск-на-Амуре (D-4230), Анюйский национальный парк (D-3585, D-3648), Нац. парк Шантарские о-ва, о. Б. Шантар (D-4247); Сах. обл., о. Кунашир (D-1651, D-3322, D-4426), о. Сахалин (D-106, D-120).

*Ch. aeruginosa* (Oeder) Seaver, на валежной древесине, хв.-шир. лес (D-122). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-121, D-1973), Верхнеуссурийский стационар (D-1580), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-128, D-1732, D-3479), Уссурийский зап. (D-124, D-125, D-127, D-1881), Лазовский зап. (D-146, D-1581), Сихотэ-Алинский зап. (D-123, D-126, D-129, D-131, D-132, D-133); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-2537), Солнечный р-н, хр. Мяочан (D-4357); Сах. обл., о. Сахалин (D-130).

#### *Dermateaceae*

*Pezizula carpinea* (Pers.) Tul. ex Fuckel, на валежных ветвях лиственных пород, хв.-шир. лес (D-1027). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

#### *Discinellaceae*

*Pezoloma fergussonii* (Sacc.) Korf, на валежной древесине *Philadelphus* sp., хв.-шир. лес (D-2038). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1997, D-2007); Уссурийский зап. (D-2022).

#### *Helotiaceae*

*Hymenoscyphus caudatus* (P. Karst.) Dennis, на листовом опаде, в подстилке, хв.-шир. лес (D-493); на листовом опаде *Populus* sp., в подстилке, долинный (D-545); на листовом опаде *Betula* sp., в подстилке, шир. (D-4422). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1962), Уссурийский зап. (D-484, D-485, D-486, D-487, D-488, D-489, D-491, D-492, D-494, D-495, D-496, D-497, D-498, D-499, D-500, D-501, D-544, D-546, D-547, D-548), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3877, D-3883, D-3953); Хабаров. кр., окр. г. Хабаровск (D-2787, D-2814, D-2853), Большехехирский зап. (D-4110, 4468), окр. г. Николаевск-на-Амуре (D-4234), окр. г. Комсомольск-на-Амуре (D-4226), Нац. парк Анюйский (D-3811), Ботчинский зап. (D-3999); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2556, D-2572); Сах. обл., о. Сахалин (D-490, D-2277); Камч. кр., Поронайский р-н (D-2305), Усть-Камчатский р-н (D-3107).

*H. scutula* (Pers.) W. Phillips, на стеблях травянистых растений, в подстилке, хв.-шир. лес (D-1916). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-551, D-1645), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1964, D-1967), Уссурийский зап. (D-1586, D-3560, D-4142), Лазовский зап. (D-556, D-1588, D-1994), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3380, D-3402, D-3417, D-3421, D-3869, D-3888, D-3908, D-4025); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-2817, D-2840, D-2850, D-2851, D-2908, D-4469), Ботчинский зап. (D-3055, D-3982), Нац. парк Анюйский (D-3595, D-3645), Верхнебуреинский р-н (D-3590), р-н Полины Осипенко, северо-восточнее пос. Бриакан (D-4355), окр. пос. Полины Осипенко (D-4361), Солнечный р-н, перевал на хр. Мяочан (D-4363), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4297); Сах. обл., о. Кунашир (D-2334, D-4352, D-4446), о. Монерон (D-2023), о. Сахалин (D-542, D-543, D-549, D-550, D-552, D-554, D-2254, D-2349); Маг. обл., бухта Гертнера (D-553, D-555); Камч. кр., Поронайский р-н (D-557), Усть-Камчатский р-н (D-3138, D-3145, D-3154, D-3241, D-3242, D-3254, D-3270, D-3299).

#### *Gelatinodiscaceae*

*Ascocoryne sarcoides* (Jacq.) J.W. Groves et D.E. Wilson, на валежной древесине *Quercus* sp., хв.-шир. лес (D-1846); на валежной древесине *Tilia amurensis*, долинный (D-1520). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-2954), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-2004, D-2005, D-2011), Уссурийский зап. (D-1519), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3845, D-3884, D-3919, D-3920, D-3925), Лазовский зап. (D-23), Сихотэ-Алинский зап. (D-25, D-26, D-27, D-28); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-2544, D-2834); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2536, D-2591); Сах. обл., о. Сахалин (D-24).

#### *Lachnaceae*

*Lachnellula fuckelii* (Bres. ex Rehm) Dharne, на ветвях хвойных пород, ельник (D-672, D-671). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Шкотовский р-н (Raitviir, 1991); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-4207); Сах. обл., о. Сахалин (D-3687).

*L. minuscula* Raitv., на ветвях *Larix* sp., хв.-шир. лес (D-1891). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Верхнеуссурийский стационар (D-1572), Лазовский зап. (D-691), Сихотэ-Алинский зап. (D-689); Хабаров. кр., Ботчинский зап. (D-2998, D-3362, D-3363), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4295); Сах. обл., о. Сахалин (D-690, D-692).

*L. calyciformis* (Batsch) Dharne, на ветвях *Abies* sp., хв.-шир. лес (D-1917); на валежной древесине *Picea* sp., хв.-шир. лес (D-600, D-599); на валежной древесине хвойного, ельник (D-594). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Уссурийский зап. (D-597), Лазовский зап. (D-608); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-2896, D-4113), Аяно-Майский р-н (D-1552), Солнечный р-н, хребет Мяочан (D-4204, D-4379), Ботчинский зап. (D-3000, D-3360); Амурская обл., Архаринский р-н (D-3462); Сах. обл., о. Монерон (D-3688), о. Сахалин (D-590, D-591, D-592, D-593, D-595, D-596, D-598, D-601, D-602, D-603, D-604, D-605, D-606, D-607, D-609, D-610, D-611, D-612, D-613, D-614, D-615, D-616, D-2467, D-2549); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3151).

#### *Leotiaceae*

*Leotia lubrica* (Scop.) Pers., на подстилке под *Picea* sp., ельник (D-791, D-792); на почве, ельник (D-786); на почве, каменноберезняк (D-3119, D-3122). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-1675, D-3475, D-4294), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1972, D-2001, D-3484), Уссурийский зап. (D-777, D-779, D-780, D-781, D-783, D-785, D-1811), Верхнеуссурийский стационар (D-787, D-1676, D-1677), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3827, D-3832, D-3944), Лазовский зап. (D-774), Сихотэ-Алинский зап. (D-776, D-778, D-782, D-790); Амурская обл., Архаринский р-н (D-2932); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1804, D-2100, D-2514, D-2515); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-784, D-2516, D-3456), Ванинский р-н (D-3977, D-4000), Нанайский р-н (D-3650), Солнечный р-н, хребет Мяочан (D-4240); Амурская обл., Благовещенский р-н (D-1826), Магдагачинский р-н (D-789), Ши-мановский р-н (D-793); Маг. обл., окр. Магадана (D-2922); Сах. обл., о. Кунашир (D-4022), о. Сахалин (D-775, D-1778).

*L. marcida* Pers., на подстилке, хв.-шир. лес (D-1871). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Сихотэ-Алинский

зап. (D-1902, D-1919); Амурская обл., Благовещенский р-н (D-1938).

*Microglossum rufum* (Schwein.) Underw., на почве, хв. лес (D-1847). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-2068), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-796), Уссурийский зап. (D-803), Верхнеуссурийский стационар (D-801), Лазовский зап. (D-800); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2028); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-802, D-804, D-2772), Комсомольский р-н (D-3544), Нанайский р-н (D-3573).

#### Mollisiaceae

*Mollisia ligni* (Desm.) P. Karst., на валежной древесине *Quercus* sp., долинный (D-855). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Лазовский зап. (D-852, D-853, D-854), Сихотэ-Алинский зап. (D-3809); Хабаров. кр., Вяземский р-н (D-4093), Советско-Гаванский (D-3021, D-3377), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4320); Сах. обл., о. Кунашир (D-1649), о. Сахалин (D-3116).

#### Pezizellaceae

*Calycina citrina* (Hedw.) Gray, на валежной древесине хвойной породы, хв.-шир. лес (D-1858), на валежных ветвях лиственных пород, хв.-шир. лес (D-4457). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-1539, D-3458), Уссурийский зап. (D-97), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1971, D-1978, D-3472), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3382, D-3825, D-3863, D-3917, D-3918), Лазовский зап. (D-66, D-69, D-1948, D-2008), Сихотэ-Алинский зап. (D-53, D-54, D-59, D-61, D-62, D-64, D-65, D-67, D-1905, D-3785); Амурская обл., Архаринский р-н (D-3330), Мазановский р-н (D-3504); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1617, D-2590); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1333, D-1336, D-1340, D-1341, D-1345, D-1348, D-1554), Большехехирский зап. (D-2520, D-4466), Нанайский р-н, хребет Тордоки-Яни (D-3414), Ботчинский зап. (D-3058, D-3345, D-3986, D-4005, D-4289), Солнечный р-н, окр. оз. Эворон (D-4389), Нанайский р-н (D-3598, D-3735), Ульчский р-н (D-1824), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4257, D-4258, D-4268, D-4313); Маг. обл., окр. Магадана (D-1866), Сусуманский р-н (D-98, D-3642, D-3649); Сах. обл., о. Сахалин (D-55, D-56, D-57, D-58, D-60, D-63, D-68, D-70, D-71, D-72, D-73, D-99, D-100, D-1772, D-2083, D-2284, D-3114); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3269).

*Rodwayella citrinula* (P. Karst.) Spooner, на валежной древесине, хв.-шир. лес (D-509). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. Владивостока (D-511), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-503, D-506, D-507), Уссурийский зап. (D-502, D-505, D-510, D-512), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3415, D-3909), Сихотэ-Алинский зап. (D-504, D-508); Амурская обл., Архаринский р-н (D-3491); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2575); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3111, D-3153, D-3155, D-3238, D-3272).

#### Rutstroemiaceae

*Rutstroemia petiolorum* (Roberge ex Desm.) W.L. White, на стержнях листьев *Fraxinus* sp., кедрово-шир. лес (D-1197). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Уссурийский зап. (D-1196, D-1198, D-1199, D-1200, D-1201, D-1202, D-1203); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2541).

#### Sclerotiniaceae

*Ciborinia candolleana* (Lév.) Whetzel, на листовом опаде в подстилке (D-2013). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*Sclerencoelia fascicularis* (Alb. et Schwein.) Pärtel et Baral, на валежной древесине *Populus* sp., шир. лес (D-2090, D-4453). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Лазовский зап. (D-101); Хабаров. кр., Верхнебуреинский р-н (D-3574).

#### Tyranidaceae

*Tyranis prunastri* (Pers.) Wallr., на ветвях *Prunus ussuriensis*, долинный (D-257). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Артем (D-260), Уссурийский зап. (D-258, D-261), Красноармейский р-н (D-259).

#### Incertae sedis

*Podophacidium xanthomelum* (Pers.) Kavina, на замшевой почве, ельник (D-2229). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

#### Phacidiales

##### Phacidiaceae

*Bulgaria inquinans* (Pers.) Fr., на валежной древесине *Quercus* sp., смешанный (D-4480). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-77, D-78, D-80, D-1545, D-1703), Амурский р-н (D-1731, D-2505), Уссурийский зап. (D-81, D-1774), Верхнеуссурийский стационар (D-79), Сихотэ-Алинский зап. (D-1906); Амурская обл., Архаринский р-н (D-76); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-3333); Хабаров. кр., Нанайский р-н (D-3724); Сах. обл., о. Кунашир (D-4454).

##### Rhytismatales

##### Cudoniaceae

*Cudonia circinans* (Pers.) Fr., на почве (D-182); на подстилке, хв.-шир. лес (D-1867). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Уссурийский зап. (D-180), Верхнеуссурийский стационар (D-176, D-177, D-178, D-185, D-192, D-199), Партизанский р-н (Raitviir, 1991), Лазовский зап. (D-3476), Сихотэ-Алинский зап. (D-183, D-190, D-191, D-193, D-196, D-200, D-201, D-202); Амурская обл., Селемджинский р-н (D-3513); Хабаров. кр., Ботчинский зап. (D-3339, D-3344, D-3347, D-3966, D-3981, D-3987), Нанайский р-н (D-3643), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4259, D-4261, D-4262, D-4280, D-4321); Сах. обл., о. Сахалин (D-179, D-181, D-184, D-187, D-188, D-189, D-194, D-195, D-197, D-198, D-1767, D-2101, D-2102).

*Spathularia flavida* Pers., на почве, ельник (D-1369); на подстилке, хв.-шир. лес (D-1368). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Верхнеуссурийский стационар (D-1357, D-1358), Сихотэ-Алинский зап. (D-1384, D-3742, D-3744, D-3767); Амурская обл., Архаринский р-н (D-1371, D-1387, D-1391), Благовещенский р-н (D-1937, D-2089), Магдагачинский р-н (D-1389, D-1390), Селемджинский р-н (D-1360, D-1366, D-3545, D-1363, D-1364), Зейский зап. (D-1556, D-1557); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1544, D-1800, D-2513); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1386, D-2061), Большехехирский зап. (D-1388, D-1392), Ботчинский зап. (D-1367, D-2948, D-3342, D-3343, D-3357, D-3368, D-3369, D-3370, D-3371), Верхнебуре-

инский р-н (D-3338), р-н Полины Осипенко, окр. с. Бриакан (D-4385), Солнечный р-н, окр. п. Березовый (D-4386), долина р. Синах (D-4384), Комсомольский зап. (D-1385, D-3521), Ульчский р-н (D-1372); Маг. обл., окр. Магадана (D-1359, D-1378), Тенькинский р-н (D-1361, D-1362, D-1373), Хасынский р-н (D-1374); Сах. обл., о. Моноeron (D-2026, D-3229), о. Сахалин (D-1311, D-1354, D-1355, D-1356, D-1365, D-1370, D-1375, D-1376, D-1377, D-1379, D-1380, D-1381, D-1382, D-1383, D-1549, D-1779, D-1792, D-1793, D-1794, D-2027, D-2092, D-3337).

#### *Rhytismataceae*

*Trybliodopsis pinastri* (Pers.) P. Karst., на ветвях *Abies holophylla*, хв.-шир. лес (D-1481). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1478, D-1486), Уссурийский зап. (D-1487), Верхнеуссурийский стационар (D-1589), Сихотэ-Алинский зап. (D-1473, D-1480), Хорольский р-н (D-3301); Амурская обл., Зейский зап. (D-3530); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1338, D-1343); Сах. обл., о. Кунашир (D-1485, D-1488), о. Сахалин (D-1464, D-1465, D-1466, D-1467, D-1468, D-1469, D-1470, D-1471, D-1472, D-1474, D-1479, D-1475, D-1476, D-1482, D-1483, D-1498, D-1499, D-3307, D-3312, D-3313, D-3315, D-3316).

#### *Orbiliomycetes*

##### *Orbiliales*

##### *Orbiliaceae*

*Orbilina xanthostigma* (Fr.) Fr., на валежной древесине *Quercus* sp., хв.-шир. лес (D-1883). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-967), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3865, D-3898, D-3910, D-3914, D-3945), Лазовский зап. (D-968, D-970), Сихотэ-Алинский зап. (D-969, D-971, D-974, D-3808); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2495); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-2554, D-2809, D-2831, D-2833), Ботчинский зап. (D-3008, D-3023, D-3378), р-н Полины Осипенко, окр. пос. Бриакан (D-4369), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4256, D-4315); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3250).

#### *Pezizomycetes*

##### *Pezizales*

##### *Discinaceae*

*Gyromitra infula* (Schaeff.) Quél., на валежной разложившейся древесине, ельник (D-325, D-4148); на валежной древесине *Quercus* sp., долинный (D-321); на валежной разложившейся древесине, хв.-шир. лес (D-1940). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-2051), Уссурийский зап. (D-319, D-4149), Пожарский р-н (D-318, D-323), Верхнеуссурийский стационар (D-322, D-326), Сихотэ-Алинский зап. (D-320); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1798); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-430, D-1553, D-3470), Ботчинский зап. (D-4219, D-4220), Тугуро-Чумиканский р-н, окр. р. Тальнак (D-4286); Маг. обл., окр. пос. Унтар (D-324); Сах. обл., о. Сахалин (D-1769, D-3431); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3278).

*Gyromitra esculenta* Pers. ex Fr., на почве, кедрово-шир. лес (D-330, D-329); на почве, ельник (D-328). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Уссурийский зап. (D-2533), Лазовский зап. (D-3464); ЕАО, Биробиджан-

ский р-н (D-1542); Хабаров. кр., Верхнебуреинский р-н (D-3575); Маг. обл., окр. г. Магадан (D-1856); Сах. обл., о. Сахалин (D-1816).

#### *Helvellaceae*

*Helvella crispa* (Scop.) Fr., на почве, кедрово-шир. лес (D-362); на почве, долинный (D-360, D-346, D-4266, D-4491); на валежной разложившейся древесине, хв.-шир. лес (D-1910, D-4431); на подстилке, ельник (D-2039). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-339, D-366, D-1766, D-1789, D-1922, D-2040, D-2045, D-2094, D-3450, D-4075, D-4291), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3828, D-3867, D-3889), Уссурийский зап. (D-341, D-345, D-348, D-349, D-350, D-352, D-354, D-355, D-357, D-363, D-364, D-365, D-367, D-369, D-370, D-371, D-1782, D-1796, D-1893, D-4130), Пограничный р-н (D-2047), Верхнеуссурийский стационар (D-344, D-347, D-361), Лазовский зап. (D-340, D-1698, D-1699), Сихотэ-Алинский зап. (D-338, D-351, D-368, D-1895, D-1898), Ханкайский р-н (D-1764, D-1843, D-1844); Амурская обл., Магдагачинский р-н (D-359), Михайловский р-н, окр. пос. Зеленый бор (D-4069), Шимановский р-н (D-353); Амурская обл., Архаринский р-н (D-343), Благовещенский р-н (D-2052, D-2053, D-2097, D-2098); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1543, D-2050, D-2963); Хабаров. кр., Большехехирский зап. (D-356, D-2930, D-3517), Комсомольский зап. (D-4014), Верхнебуреинский р-н (D-3722), Нанайский р-н (D-3727); Сах. обл., о. Кунашир (D-4292, D-4293), о. Сахалин (D-2111); Камч. кр., Усть-Большерецкий р-н (D-342).

*H. ephippium* Lév., на почве, хв.-шир. лес (D-1941, D-2074). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-432, D-434), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3934), Уссурийский зап. (D-433, D-435), Лазовский зап. (D-3481); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2576, D-2587).

*H. elastica* Bull., на почве, лиственничник (D-384); на почве, хв.-шир. лес (D-1924, D-1840). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-389, D-2043, D-2054), Уссурийский зап. (D-373, D-374, D-376, D-377, D-380, D-385, D-386, D-388, D-393, D-397, D-1806, D-4132), Верхнеуссурийский стационар (D-375, D-382, D-383), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3868, D-3899, D-3890, D-3932, D-3958, D-3400), Лазовский зап. (D-372), Сихотэ-Алинский зап. (D-391, D-392, D-395, D-396, D-398), Ханкайский р-н (D-3766); Амурская обл., Благовещенский р-н (D-1832, D-1943, D-3498), Шимановский р-н (D-381); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1633, D-1786, D-1803, D-2095, D-3564); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-387), Большехехирский зап. (D-2566, D-2871, D-3508, D-3509, D-4241), Комсомольский зап. (D-424); Сах. обл., о. Сахалин (D-390, D-394, D-1815).

*H. macropus* (Pers.) P. Karst., на валежной древесине, хв.-шир. лес (D-401, D-403); на почве, хв.-шир. лес (D-402, D-1929), на подстилке, ельник (D-407); на почве, ельник (D-1935, D-1870). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1700, D-1930, D-1931), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-405, D-408, D-417), Уссурийский зап. (D-1810, D-4131), Верхнеуссурийский стационар (D-404, D-1614), Лазовский зап. (D-1697), Сихотэ-Алинский зап. (D-399, D-409, D-410, D-411, D-412, D-415, D-419, D-1896); Амурская обл., Благовещенский р-н (D-2096); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1634, D-1787, D-1802, D-3565); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1314), Большехехирский зап. (D-3518), Ботчинский зап. (D-400, D-3341); Верхнебу-

реинский р-н (D-3596), Нанайский р-н (D-3723); Сах. обл., о. Кунашир (D-406, D-413, D-4019), о. Сахалин (D-414, D-416, D-420, D-421, D-438, D-439, D-1795, D-2964).

#### *Morchellaceae*

*Verpa bohemica* (Krombh.) J. Schröt., на подстилке, смешанный (D-2518). Распр. по ДВР России: в Приморском крае отмечен впервые; Хабаров. кр., Большехехцирский зап. (D-3524), Нанайский р-н (D-3646).

#### *Otideaaceae*

*Otidea alutacea* (Pers.) Masee, на почве, хв.-шир. лес (D-1865). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1015, D-1165, D-3802), Уссурийский зап. (D-1780), Верхнеуссурийский стационар (D-1638), Лесозаводский р-н (D-1809), Ханкайский р-н (D-1834, D-1837), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3878, D-3923), Сихотэ-Алинский зап. (D-3789, D-3791, D-3793); Амурская обл., Благовещенский р-н (D-2240, D-2243); Хабаров. кр., Большехехцирский зап. (D-4232); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3243).

*O. leporina* (Batsch) Fuckel, на почве среди мха, хв.-шир. лес (D-1864). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1933), Уссурийский зап. (D-1000, D-1003), Лазовский зап. (D-999, D-1002), Сихотэ-Алинский зап. (D-1004, D-3123); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1784); Хабаров. кр., Большехехцирский зап. (D-2892, D-3488); Сах. обл., о. Сахалин (D-2057, D-2982, D-3652).

*O. notica* (Pers.) Fuckel, на подстилке, ельник (D-995, D-992, D-4224, D-4290). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-988), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-986), Уссурийский зап. (D-989, D-997, D-1807, D-1835), Верхнеуссурийский стационар (D-987), Лазовский зап. (D-272, D-984, D-1102), Сихотэ-Алинский зап. (D-991, D-998, D-1104, D-1908); Амурская обл., Архаринский р-н (D-3550), Благовещенский р-н (D-1848); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2227, D-2983); Хабаров. кр., Комсомольский р-н (D-1626), Нанайский р-н (D-3592); Сах. обл., о. Сахалин (D-994, D-996, D-1103).

#### *Pezizaceae*

*Adelphella babingtonii* (Berk. et Broome) Pfister, Matocés et I. Kušan, на валежной древесине лиственной породы, шир. лес (D-4479). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3409), Лазовский зап. (D-1017, D-1693); Хабаров. кр., Ботчинский зап. (D-3013), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4263).

*Elaiopezia luteola* (Velen.) Van Voogen, на почве, хв.-шир. лес, D-2104. Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*Legaliana badia* (Pers.) Van Voogen, на песчаной почве (D-1885); на замшелой песчаной почве (D-2071); на почве, хв.-шир. лес (D-4427, D-4233). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1054, D-1701, D-1771, D-1914, D-2989, D-3477), Уссурийский зап. (D-1038, D-1056, D-1777), Верхнеуссурийский стационар (D-1039, D-1041, D-1058), Ханкайский р-н (D-1827), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3403), Лазовский зап. (D-1752, D-1754), Сихотэ-Алинский зап. (D-1032, D-1050, D-1053, D-1057); Амурская обл., Магдагачинский р-н

(D-3531); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2112); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1042, D-1320, D-1330), Большехехцирский зап. (D-2759, D-2891), Ботчинский зап. (D-043, D-4020); Комсомольский зап. (D-1604), р-н Полины Осипенко, долина р. Нилан (D-4152, D-4362, D-4374), Тугуро-Чумиканский р-н, окр. р. Тальнак (D-4278); Маг. обл., Ольский р-н (D-2935); Сах. обл., о. Кунашир (D-1608, D-1609, D-1610, D-1611, D-1613, D-4068, D-4017, D-4428), о. Сахалин (D-1030, D-1031, D-1033, D-1034, D-1035, D-1036, D-1037, D-1040, D-1043, D-1044, D-1045, D-1046, D-1047, D-1048, D-1049, D-1051, D-1052, D-2079, D-2988, D-2990); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3140, D-3159, D-3244, D-3252, D-3262, D-3289, D-3305).

*Pachyella celtica* (Boud.) Häffner, на почве, хв.-шир. лес (D-1863, D-1862). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-2055), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3824), Лазовский зап. (D-1096, D-1747, D-1750).

*Paragalactinia succosa* (Berk.) Van Voogen, на почве, хв.-шир. лес (D-1140, D-1144). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1141, D-1142, D-1143, D-1770), Уссурийский зап. (D-1134, D-1135, D-1137, D-1138, D-1139, D-1887), Сихотэ-Алинский зап. (D-1136).

*P. michellii* (Boud.) Van Voogen, на почве, хв.-шир. лес, D-2014. Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*Peziza badiofusca* (Boud.) Dennis, на почве, хв.-шир. (D-1892); на валежной древесине, хв.-шир. (D-1878). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1913), Уссурийский зап. (D-1874), Лазовский зап. (D-1744, D-1748).

*P. brunneoatra* Desm., на илистой почве (D-1654); на песчаной почве (D-1845). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1667), Лазовский зап. (D-1064, D-1065), Сихотэ-Алинский зап. (D-1060, D-1062, D-1063); Сах. обл., о. Сахалин (D-1061).

*P. buxea* Quél., на почве, хв.-шир. лес (D-2070). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*P. griseorosea* W.R. Gerard, на коре валежного ствола хвойной породы, хв.-шир. лес, D-1936. Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

#### *Pyronemataceae*

*Humaria hemisphaerica* (F.H. Wigg.) Fuckel, на валежной древесине хвойной породы, ельник (D-457, D-1868). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-460, D-463), Уссурийский зап. (D-455, D-464, D-1805, D-1869), Верхнеуссурийский стационар (D-453, D-1636), Ханкайский р-н (D-1765), Нац. парк "Удэгейская легенда" (D-3926), Лазовский зап. (D-465, D-1696, D-1718), Сихотэ-Алинский зап. (D-449, D-450, D-451, D-3772, D-3773, D-3790, D-3792); Амурская обл., Архаринский р-н (D-452), Благовещенский р-н (D-1825, D-1939, D-2246), Шимановский р-н (D-459, D-461); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2230, D-2567); Хабаров. кр., Большехехцирский зап. (D-454, D-2760, D-2761, D-2825, D-3526, D-4243), Ботчинский зап. (D-3001, D-3355); Сах. обл., о. Кунашир (D-4023, D-4447), о. Сахалин (D-456, D-458, D-462, D-2121); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3271, D-3277).

*Leucoscypha leucotricha* (Alb. et Schwein.) Boud., на почве, ельник (D-1839). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*Scutellinia pennsylvanica* (Seaver) Denison, на валежной древесине, хв.-шир. лес (D-1861). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-4236), Уссурийский зап. (D-1872), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3935), Лазовский зап. (D-1261, D-1717), Сихотэ-Алинский зап. (D-1259, D-1260, D-1262, D-1263); Хабаров. кр., Ботчинский зап. (D-3365), окр. г. Комсомольск-на-Амуре (D-4235); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3280).

*S. scutellata* (L.) Lambotte, на обомшелой древесине и коре *Quercus* sp., хв.-шир. лес (D-1859); на ветвях *Phyladelphus* sp. (D-2015), на валеже *Betula* sp. (D-4225). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1266, D-1287, D-1288), Нац. парк Земля леопарда, зап. Кедровая Падь (D-1672, D-3478), Уссурийский зап. (D-1272, D-1276, D-1280, D-1281, D-1813, D-1877, D-1879, D-1889), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-693, D-3383, D-3390, D-3405, D-3843, D-3892, D-3941, D-4027), Лазовский зап. (D-1273, D-1275, D-1284, D-1292, D-1592, D-1593, D-1594, D-1707, D-1713, D-1716), Сихотэ-Алинский зап. (D-1283, D-1290, D-1291, D-1907, D-3774, D-3776); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2560, D-2582); Хабаров. кр., Большехецирский зап. (D-2574, D-2768, D-2877, D-2880, D-2882), Ботчинский зап. (D-3017, D-3018, D-3019, D-3045, D-3075), Аяно-Майский р-н (D-1264), Нанайский р-н (D-3413, D-3731, D-3734), Зейский р-н (D-3536, D-3547), Нац. парк Шантарские острова, о. Б. Шантар (D-4245); Маг. обл., окр. г. Магадан (D-1289); Сах. обл., о. Кунашир (D-1641, D-3320), о. Монерон (D-3660, D-3661), о. Сахалин (D-1267, D-1268, D-1269, D-1270, D-1271, D-1274, D-1277, D-1279, D-1285, D-1286, D-2115, D-2234, D-2239, D-2275, D-3440); Камч. кр., Усть-Камчатский р-н (D-3106, D-3285).

*S. umbrorum* (Fr.) Lambotte, на замшелой влажной почве и илестых заносах (D-1660). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1293), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3404, D-3893), Лазовский зап. (D-1296, D-1303, D-1304, D-1591, D-1596, D-1708); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-2584); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1316), Большехецирский зап. (D-2879, D-2885), р-н Полины Осипенко (D-4376); Сах. обл., о. Кунашир (D-1600), о. Монерон (D-3658), о. Сахалин (D-1295, D-1297, D-3443).

*Sphaerosporella hinnulea* (Berk. et Broome) Rifai, на песчаной почве (D-1799). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*Trichophaea albospadicea* (Grev.) Boud., на коре валежного ствола хвойной породы, хв.-шир. лес (D-1894). Распр. по ДВР России: Прим. кр., единственное место нахождения.

*T. hemisphaerioides* (Mouton) Graddon, на валежной древесине, хв.-шир. лес (D-1928). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1927, D-2996), Нац. парк Земля леопарда (D-4421), Верхнеуссурийский стационар (D-1595), Лазовский зап. (D-1443, D-1444, D-1447), Сихотэ-Алинский зап. (D-1442, D-1445, D-1446, D-1448, D-3126); Хабаров. кр., Зейский р-н (D-1639).

#### *Sarcoscyphaceae*

*Microstoma floccosum* (Sacc.) Raitv., на валежных ветвях в подстилке, хв.-шир. лес (D-808). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-807), Уссурийский зап. (D-8, D-806, D-3520, D-3616); Хабаров. кр., Комсомольский р-н (D-7), Солнечный р-н (D-4099); Сах. обл., о. Сахалин (D-3225, D-3599).

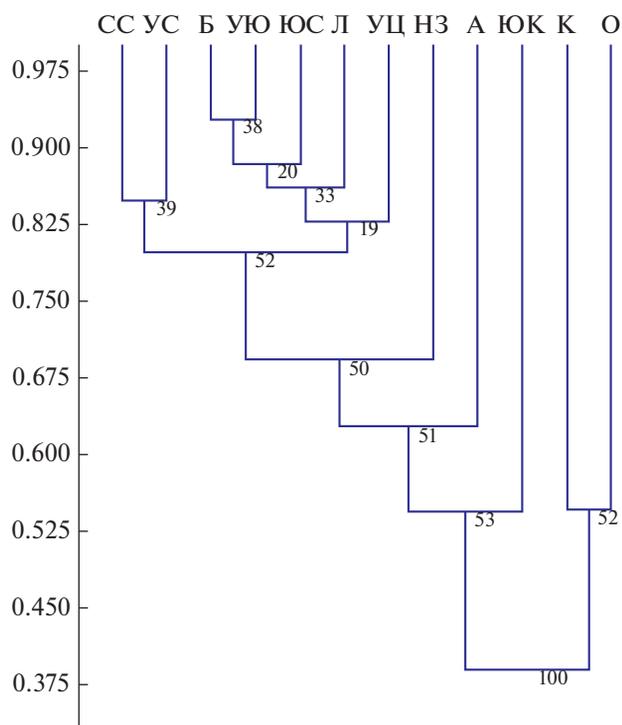
#### *Sarcosmataceae*

*Galiella amurensis* (Lj.N. Vassiljeva) Raitv., на коре отмершей *Picea* sp., ельник (D-1253, D-1254); на валежной древесине хвойной породы (D-1257); на валежной древесине *Abies* sp. (D-1258). Распр. по ДВР России: Прим. кр., Верхнеуссурийский стационар (D-1255, D-1256), Сихотэ-Алинский зап. (D-1252); Хабаров. кр., Большехецирский зап. (D-2765, D-2886), Нанайский р-н (D-3813); Сах. обл., о. Кунашир (D-4124).

#### *Tarzettaceae*

*Tarzetta catinus* (Holmsk.) Korf et J.K. Rogers, на подстилке, хв.-шир. лес (D-1873, D-1886). Распр. по ДВР России: Прим. кр., окр. г. Владивосток (D-1066, D-1068, D-1915), Нац. парк “Удэгейская легенда” (D-3927), Лазовский зап. (D-1071, D-1423, D-1745), Сихотэ-Алинский зап. (D-1069, D-1070, D-1421, D-1422, D-1909); ЕАО, Биробиджанский р-н (D-1801, D-2117); Хабаров. кр., Аяно-Майский р-н (D-1321), Большехецирский зап. (D-2555, D-2762, D-2889), Ботчинский зап. (D-3991), Нанайский р-н (D-3587, D-3725); Маг. обл., окр. г. Магадан (D-2929); Сах. обл., о. Монерон (D-3663), о. Сахалин (D-1067, D-2032, D-3487).

На сегодняшний день известно об участии в микобиоте Ливадийского хребта 79 видов дискомицетов. Отмеченные виды представляют 27 различных семейств подотдела *Pezizomycotina*. Ядро рассматриваемой микобиоты составляют представители *Lachnaceae*, *Pyronemataceae* и *Pezizaceae*, что не вполне характерно для общей структуры биоты дискомицетов дальневосточного региона (Bogacheva, 2008, 2009). В видовом отношении участие в ней оперкулятных и иноперкулятных дискомицетов почти равнозначно, в отличие от состава микобиоты дальневосточного региона в целом. Возможно, одной из причин тому подвижный до некоторой степени почвенный покров на скальных осыпях, который препятствует сплошному задернению и наличию “голой” почвы. Не последнее место в объяснении этого приходится на фрагментарность и недостаточность исследований территории. Тем не менее, нам удалось отметить типичные виды из семейств *Chlorociboriaceae*, *Helotiaceae*, *Orbiliaceae*, *Pezizellaceae* и *Rhytismataceae*, разлагающие в хвойно-широколиственных дальневосточных лесах растительный опад. Сравнительно небольшой список включает как широко распространённые по региону грибы (*Ascocoryne sarcoides*, *Calycina citrina*, *Chlorencoelia versiformis*, *Chlorociboria aeruginascens*, *Ch. aeruginosa*, *Cudonia circinans*, *Hymenoscyphus caudatus*, *H. scutula*, *Lachnellula calyciformis*, *Leotia lubrica*, *Orbilbia xanthostigma*, *Rodwayella citrinula*, *Spathularia flavida*), так и ряд редких, имеющих единичные точки сбора (*Cenangium ferruginosum*, *Ciborinia candolleana*, *Encoelia furfuracea*, *Heyderia abietis*, *Lachnellula fuckelii*, *L. minuscula*, *Leotia marcida*, *Microglossum rufum*, *Pezicula carpinea*, *Pezoloma fergussonii*, *Rutstroemia petiolorum*, *Sclerencoelia fascicularis*, *Trichoglossum hirsutum*, *Tympanis prunastri*, *Trybliidiopsis pinastri*). Удалось обнаружить новые для микобиоты



**Рис. 1.** Сходство видового состава дискомицетов различных флористических районов Дальнего Востока России: А – Амгунский; Б – Буреинский; К – Камчатский; Л – территория Ливадийского хребта; НЗ – Нижне-Зейский; О – Охотский; СС – Северо-Сахалинский; УС – Уссурийский северный; УЦ – Уссурийский центральный; УЮ – Уссурийский южный; ЮК – Южно-Курильский; ЮС – Южно-Сахалинский.

края виды. Так, на подстилке были собраны грибы *Ciborinia candolleana* и *Verpa bohemica*. Первый из них впервые указывается здесь и для микобиоты дальневосточного региона России. Нами отмечены еще две новинки регионального уровня – *Paragalactinia michelii* на бурой лесной почве в полидоминантном лесу и *Sphaerosporella hinnulea* на песке вдоль берега ручья в зоне заплеска.

По геоботаническому районированию Б.П. Колесникова исследуемая территория относится к Сучанско-Владивостокскому округу Маньчжурской провинции Дальневосточной хвойно-широколиственной области (Kolesnikov, 1955). В растительности до сих пор участвуют представители тургайской флоры, что определяет статус лесов нижнего пояса как реликтовые (Kurentsova, 1968). Возможно, это обстоятельство обеспечило развитие на этой территории не часто встречаемые в южной части региона грибы – *Leucoscypha leucotricha*, *Pachyella celtica*, *Paragalactinia succosa*, *Peziza badiofusca*, *Sphaerosporella hinnulea*, *Trichophaea albospadicea* и т.д., не поднимающиеся севернее 50-й параллели. Кластерный анализ показал, что микобиота дискомицетов Ливадийского хребта носит черты таковых соседних флористических районов (рис. 1). Виды образуют две выраженные

кластерные группы – низкое сходство видового состава (значения коэффициента сходства ниже 0.4), но устойчивость образования ветвей дендрограммы подтверждается высокими бутстреп-значениями (выше 50%). Группа широкораспространенных видов позволяет включать в анализ сравнительно отдаленные флористические р-ны. Их выраженная обособленность может быть вызвана также и недостаточностью знаний о разнообразии дискомицетов в микобиоте районов. Так, хорошо прослеживается Камчатско-Охотский кластер. Устойчивы ветви Нижне-Зейского и Амгунского р-нов, в границы которых заходят немногочисленные виды, в основном дереворазрушающие, с западного макросклона Сихотэ-Алиня, и Южно-Курильского, имеющего с микобиотой Ливадийского хребта общие напочвенные и дереворазрушающие виды. Часть видов, отмеченных на Ливадийском хребте, встречаются на северо-восточном макросклоне Сихотэ-Алиня и севере Сахалина. Это вполне объяснимо общностью происхождения территорий и формирования флоры (Pletnev, 2004). В основном же состав микобиоты дискомицетов хребта близок к таковым южных отрогов и центральной части Сихотэ-Алиня, включая оба макросклона. Это дереворазрушающие и эдафотрофные виды, своим распространением не поддерживающие флористическое районирование. Возможно, что дальнейшее изучение состава микобиоты дальневосточного региона позволит получить более достоверную картину его соответствия существующему районированию.

Таким образом, видовой состав дискомицетов Ливадийского хребта разнообразен, проявляет черты дальневосточной региональной микобиоты, включает ряд редких видов. Последние образуют дизъюнктивным ареалом, границы которого в регионе не пересекают 50-ю параллель.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Baral H.O.* Die Apikalapparatur der *Helotiales*. Eine Lichtmikroskopische Studie über Arten mit Amyloidring. *Z. Mykol.* 1987a. V. 53. P. 119–135.
- Baral H.O.* Lugol's solution/IKI versus Melzer's reagent: hemiamyloidity, a universal feature of the ascus wall. *Mycotaxon.* 1987b. V. 29. P. 399–450.
- Baral H.O.* Vital versus herbarium taxonomy; morphological differences between living and dead cells of ascomycetes, and their taxonomic implications. *Mycotaxon.* 1992. V. 46 (2). P. 333–390.
- Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G. et al.* Fundamentals microtechnique studies in botany. The reference manual. Publishing company MGU, Moscow, 2000 (in Russ.).
- Bogacheva A.V.* Discomycetes (*Ascomycota: Helotiales, Neolectales, Orbiliales, Pezizales, Thelebolales*) of the South Russian Far East. Dr. Sci. Thesis. Vladivostok, 2009 (in Russ.).
- Bogacheva A.V.* Taxonomic analysis of the biota of discomycetes of the Far East. In: II Congress of Mycologists of Russia, vol. 2. Moscow, 2008, p. 548 (in Russ.).

- Govorova O.K.* Clavarioid fungi of the Southern Sikhotealin. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal*. 2002. V. 5. P. 597–602 (in Russ.).
- Govorova O.K.* Genus *Exidia* (*Heterobasidiomycetes*) in the Far East of Russia. *Mikologiya i fitopatologiya*. 1998. V. 32 (2). P. 11–13 (in Russ.).
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D.* PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 2001. V. 4 (1). [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)
- Hawksworth D.L.* Mycologist's handbook. CAB International, Surrey, 1974.
- Index Fungorum. CABI Bioscience, 2022. <http://www.indexfungorum.org>. Accessed 15.09.2022.
- Kolesnikov B.P.* An outline of the vegetation of the Far East. Khabarovsk, 1955 (in Russ.).
- Kurentsova G.E.* Vegetation of Primorsky Krai. Vladivostok: Far Eastern Book Publishing House, 1968. 192 p. (in Russ.).
- Landscape and vegetation zone of the Livadia ridge (Southern Primorye). *Dal'nauka, Vladivostok*, 2001 (in Russ.).
- Legendre L., Legendre P.* Numerical ecology. Developments in environmental modelling. 3. Elsevier Sci. Publ. Comp., Amsterdam etc., 1983.
- Lower plants, fungi and mosses of the Soviet Far East. *Fungi*. V. 1: *Basidiomycetes: Russulaceae, Agaricaceae, Cortinariaceae, Paxillaceae, Gomphidiaceae, Strobilomycetaceae*. Leningrad, Nauka, L., 1990 (in Russ.).
- Nazarova M.M.* About rare species of agaric mushrooms of the Far East of the USSR. In: *Z.M. Azbukina* (ed.). *Algae, fungi and mosses of the Far East*. Vladivostok, 1978, pp. 84–85 (in Russ.).
- Pavlicek A., Hrdá S., Flegr J.* FreeTree – Freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of the genus *Frenkelia*. *Folia Biologica*. 1999. V. 45. P. 97–99.
- Pletnev S.P.* Geological development of Sakhalin Island. In: *Flora and fauna of Sakhalin Island (Materials of International Sakhalin Island Project)*. Part 1. *Dal'nauka, Vladivostok*, 2004, p. 256 (in Russ.).
- Raitviir A.G.* *Helotiales* order Nannf. In: *Z.M. Azbukina* (ed.). *Lower plants, fungi and bryophytes of the Soviet Far East*. V. 2. Leningrad, Nauka, 1991, pp. 254–392 (in Russ.).
- Roskin G.I., Levinson L.B.* Microscopic technique. *Sovetskaya Nauka, Moscow*, 1957 (in Russ.).
- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. и др.* (Barykina et al.) Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство. М.: Изд-во МГУ, 2000. 127 с.
- Богачева А.В.* (Bogacheva) Таксономический анализ биоты дискомицетов Дальнего Востока // Современная микология в России. Т. 2. Материалы II съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2008. 548 с. С. 51.
- Богачева А.В.* (Bogacheva) Дискомицеты (Ascomycota: Helotiales, Neoleotales, Orbiliales, Pezizales, Thelebolales) юга Дальнего Востока России. Автореферат дисс. ... докт. биол. наук. Владивосток, 2009. 40 с.
- Говорова О.К.* (Govorova) Род *Exidia* (*Heterobasidiomycetes*) на Дальнем Востоке // Микология и фитопатология. 1998. Т. 32. № 2. С. 11–13.
- Говорова О.К.* (Govorova) Рогатиковые грибы южного Сихотэ-Алиня // Сибирский экологический журнал. 2002. № 5. С. 597–602.
- Колесников Б.П.* (Kolesnikov) Очерк растительности Дальнего Востока. Хабаровск: Кн. изд-во, 1955. 104 с.
- Куренцова Г.Э.* (Kurentsova) Растительность Приморского края. Владивосток, 1968. 192 с.
- Ландшафтно-растительная поясность Ливадийского хребта (Южное Приморье) (*Landscape*). Владивосток: Дальнаука, 2001. 197 с.
- Низшие растения, грибы и мохообразные советского Дальнего Востока (*Lower plants*). Грибы. Т. 1. Л.: Наука, 1990. 407 с.
- Назарова М.М.* (Nazarova) О редких видах агариковых грибов Дальнего Востока СССР // Водоросли, грибы и мхи Дальнего Востока. Владивосток, 1978. С. 84–85.
- Плетнев С.П.* (Pletnev) Историко-геологическое развитие острова Сахалин // Растительный и животный мир острова Сахалин (Материалы Международного сахалинского проекта). Ч. 1. Владивосток: Дальнаука, 2004. С. 11–22.
- Райтвиір А.Г.* (Raitviir) Порядок *Helotiales* Nannf. // Низшие растения, грибы и мохообразные Советского Дальнего Востока. Т. 2. Л.: Наука, 1991. С. 254–392.
- Роскин Г.И., Левинсон Л.Б.* (Roskin, Levinson) Микроскопическая техника. М.: Советская наука, 1957. 476 с.

## Discomycetes of the Livadiysky Ridge (Primorye Territory, Russia)

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

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

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

The article presents the results of a revision of the collection of discomycetes found in plant communities of the subalpine belt of the Livadiysky Ridge. The ridge is located in the south of Primorye Territory and is characterized as an area with well-preserved southern indigenous Far East vegetation in its lower belt. In the volume of the studied 118 specimens, 62 species were identified, among which are both widespread and new to Primorsky Krai. To date, 79 species of discomycetes are known to occur in the plant communities of the Livadia ridge. The list of species known in the mycobiota of Primorye Territory was supplemented by five taxa, of which three are new for the Far East region of Russia (*Ciborinia candolleana*, *Paragalactinia michelii*, *Sphaerosporella hinnulea*). For a number of rare species, new locations were noted. Thus, the second collection point in the region was indicated for *Cenangium ferruginosum* (on dead wood of *Quercus mongolica*) and for *Sclerencoelia fascicularis* (on dead wood of *Populus* sp.).

**Keywords:** *Ciborinia*, mycobiota, *Paragalactinia*, Russian Far East, *Sclerencoelia*, *Sphaerosporella*

УДК 632.4: 635.64

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭКЗОПРОТЕИНАЗ, ОБРАЗУЕМЫХ МИКРОМИЦЕТОМ *TOLYPOCLADIUM INFLATUM* 62A, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ ГРУНТОВ БЕЛОГО МОРЯ

© 2023 г. Н. С. Фокичев<sup>1,\*</sup>, Е. И. Корниенко<sup>1,\*\*</sup>, В. Г. Крейер<sup>1,\*\*\*</sup>, А. А. Осмоловский<sup>1,\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

\*e-mail: fokichev.n@mail.ru

\*\*e-mail: aljnka-93@mail.ru

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

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

Поступила в редакцию 10.10.2022 г.

После доработки 15.12.2022 г.

Принята к публикации 22.12.2022 г.

Исследованы тромболитические свойства препарата экзопротеиназ микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a, выделенного из грунтов Белого моря, а также отдельных его фракций, полученных после электрофокусирования, в сравнении с ближайшим аналогом-продуцентом тромболитических ферментов *T. inflatum* k1. Показаны выраженный тромболитический потенциал, наличие фибринолитической и активаторной к плазминогену активности, специфической протеолитической активности в отношении некоторых субстратов, а также пролонгированного тромболитического эффекта в отношении фибриновых сгустков. Эти свойства могут найти применение в разработке новых тромболитических препаратов для терапии тромботических состояний, создании противогематомных препаратов для наружного применения, а также диагностических наборов на патологии системы гемостаза человека.

**Ключевые слова:** внеклеточные протеиназы, микромицеты, система гемостаза, тромболизис, тромботерапия, фибринолитические ферменты

**DOI:** 10.31857/S0026364823020071, **EDN:** NIXIPI

### ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания и их осложнения занимают лидирующие позиции среди глобальных причин смертности. Так, например, в 2019 г. ишемическая болезнь сердца и инсульт по данным ВОЗ занимали лидирующие позиции по данному показателю (WHO, 2019). Кроме того, патологии сердечно-сосудистой системы и системы гемостаза часто могут быть связаны с возникновением и развитием тромботических осложнений, которые также могут быть потенциально летальными. Одним из наиболее эффективных подходов купирования и терапии тромботических осложнений являются препараты-активаторы плазминогена. Они способны оказывать стимулирующее действие на систему гемостаза больного, одновременно освобождая кровотоки от тромбов и в то же время, не вызывая серьезных осложнений, связанных с обильными кровотечениями или ретромбозами. Однако до сих пор применение таких препаратов, как стрептокиназа, урокиназа, альтеплаза и их современных аналогов является ограниченным в связи с их достаточно высокой стоимо-

стью и рисками непереносимости: кровопотери, возникновения различных реакций гиперчувствительности организма и обширных кровоизлияний в жизненно важных органах (Baker, 2002). Перспективным ответом на проблему терапии и диагностики лечения тромбозов может стать применение препаратов на основе протеолитических ферментов микроскопических грибов. Поиск современных, специфических и безопасных тромболитических веществ является важной задачей современной медицины и биотехнологии (Balami et al., 2013). Одним из перспективных направлений лечения таких заболеваний и расширения пула тромболитических препаратов является использование более специфичных и безопасных протеиназ, полученных из культуральной жидкости микромицетов (Hao et al., 2018). В данной работе изучено фибринолитическое действие протеиназ штамма микромицета рода *Tolypocladium*, выделенного из почв Белого моря, а также проведено сравнение некоторых биохимических свойств, определяющих тромболитический потенциал, с другим известным продуцентом ферментов, ак-

тивных в отношении системы гемостаза, *Tolypocladium inflatum* k1. Полученные данные могут стать основой для разработки тромботерапевтических средств на основе препаратов микромицетов данной группы, а также диагностических наборов (диагностикумов) для выявления некоторых патологических состояний системы гемостаза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Продуцент и условия культивирования.** Объектом исследования служил штамм микромицета *T. inflatum* 62a, выделенный из донного грунта. Посевной материал получали смывом спор с поверхности культуры, выращенной в пробирках на скошенном сусло-агаре в течение 7 сут при 25°C, в питательную среду состава (%): сусло – 6.7, глюкоза – 2.0, пептон – 0.1 (Batomunkueva, Egorov, 2001). После 2 сут культивирования часть биомассы переносили в ферментационную среду состава (%): глицерин – 7.0, глюкоза – 3.0, гидролизат рыбной муки – 3, NaNO<sub>3</sub> – 0.2, MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O – 0.1, KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> – 0.1. Культивирование микромицета осуществляли в условиях глубинного культивирования в качалочных колбах объемом 750 мл, содержащих 100 мл среды, на орбитальной качалке (200 об./мин) при 28°C.

**Получение препарата протеиназ из культуральной жидкости и их разделение.** После культивирования микромицета на ферментационной среде в течение 3 сут, культуральную жидкость отделяли от биомассы фильтрованием водоструйным насосом через фильтровальную бумагу (“ФС”, Россия). Внеклеточные белки из полученной культуральной жидкости осаждали сульфатом аммония при 80%-й степени насыщения. Осадок белков формировался при 4°C в течение 12 ч. Затем его отделяли центрифугированием при 15000 g (20 мин, 4°C), растворяли в минимальном объеме 0.01 М Трис-НСl-буфера, рН 8.2, и диализовали в диализных мешках против того же буфера (12 ч, 4°C). Полученный р-р белков центрифугировали в аналогичных условиях для удаления осадка и затем лиофильно высушивали. Белки разделяли методом изоэлектрофокусирования на колонке объемом 110 мл (“ЛКВ”, Швеция) в градиенте плотности сахарозы 0–40% и рН 3–10, создаваемом амфолинами (“Pharmacia”, Швеция), при напряжении 800 В в течение 36 ч (Osmolovskiy et al., 2013). Во фракциях (объемом 1 мл) после элюции с колонки определяли рН, содержание белка по оптической плотности при 280 нм и общую протеолитическую активность.

**Определение общей протеолитической активности.** Общую протеолитическую активность определяли модифицированным методом Ансона–Хагхары по количеству тирозина в неосаждаемых трихлоруксусной кислотой продуктах протеолиза после 10-минутного гидролиза 1%-го раствора ка-

зеина в 0.1 М Трис-НСl буфере (рН 8.0–8.2, 37°C), как описано ранее (Osmolovskiy et al., 2016). Активность выражали в мкмоль тирозина в минуту (Е<sub>Тир</sub>).

**Определение содержания белка.** Содержание белка определяли спектрофотометрически в кювете с длиной пути в 1 см при 280 нм (Gertler, Trop, 1971).

**Определение рН и температурного оптимума активности и оптимума стабильности препарата.** рН-оптимум активности препарата определяли в 0.4 М универсальном (натрий-ацетат-фосфат-боратном) буфере с рН от 3.0 до 11.0. К 150 мкл буфера с соответствующим значением рН добавляли 100 мкл раствора фермента и 100 мкл раствора субстрата. Для определения рН-стабильности фермента проводили инкубацию препарата в растворах буфера с разными значениями рН при 37°C в течение 2 ч, после чего определяли казеинолитическую активность. Полученные результаты выражали в % от исходной активности. Температурный оптимум для действия препарата определяли в 0.05 М Трис-НСl буфере, рН 8.2, по казеинолитической активности при 25, 30, 37, 45, 55 и 65°C. Термостабильность препарата изучали при инкубации фермента при заданных температурах в течение 2 ч и выражали в % от исходной активности фермента.

**Определение протеолитической активности в отношении отдельных белков системы гемостаза.** Активность препарата протеиназ, образуемых *T. inflatum* 62a, в отношении белков системы гемостаза определяли по расщеплению их специфических хромогенных пептидных субстратов: плазмина (Н-D-Val-Leu-Lys-pNA и For-Ala-Phe-Lys-pNA), тромбина (Tos-Gly-Pro-Arg-pNA и Н-D-Phe-Pip-Arg-pNA), фактора Ха (Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA), урокиназы (pGlu-Gly-Arg-pNA), тканевого активатора плазминогена (Н-D-Ile-Pro-Arg-pNA), субтилизина (Z-Ala-Ala-Leu-pNA), эластазы (Suc-Ala-Ala-pNA), трипсина (Bz-Arg-pNA). Измерение оптической плотности проводили при 405 нм на спектрофотометре Eppendorf kinetics (Германия). Реакции проводили путем добавления к препарату протеиназ 0.05%-го раствора соответствующего субстрата, приготовленного на 0.05 М Трис-НСl-буфере, рН 8.2 (Osmolovskiy et al., 2012). За единицу активности (Е) принимали количество мкмоль п-нитроанилина, отщепившегося от хромогенного субстрата за 1 мин при 37°C.

**Определение плазминоподобной и активаторной к плазминогену активности на фибриновых пластинах.** Плазминоподобную активность (на прогретых фибриновых пластинах) и активность активаторов плазминогена (на непрогретых фибриновых пластинах) штаммов определяли по модифицированному методу Аструпа–Мюллерца–Лассена и выражали в условных единицах на 1 мл культуральной жидкости (Landau et al., 2000). Для приготовления фибриновой пластины в чашке Петри

смешивали 9 мл 0.76%-го раствора фибриногена и 0.2 мл 0.4%-го раствора тромбина, приготовленных на смеси физиологического раствора и 0.05 М Трис-НСI буфера (рН 8.2) в соотношении 9 : 1. Инкубацию фибриновых пластин с нанесенными образцами фильтрата культуральной жидкости микромицетов (30 мкл) проводили в течение 6 ч при 37°C. За условную единицу активности принимали зону лизиса в 10 мм<sup>2</sup>, которая образуется за 3–4 ч инкубации фибриновых пластин при 37°C.

**Выявление коагулазной активности.** Наличие коагулазной активности препарата выявляли по визуализации фибринового волокна в экспериментах со свертыванием фибриногена человека (Sigma-Aldrich, США) и быка (H2B Medical, США). В пробирки типа “Эппендорф” добавляли 0.1 мл препарата протеиназ и 0.2 мл 0.4% раствора фибриногена и наблюдали визуализацию фибринового волокна или ее отсутствие. В качестве контроля использовали 0.1%-й р-р тромбина.

**Определение углеводного компонента.** Углеводный компонент в составе молекул протеиназ определяли с помощью периодной кислоты и реактива Шиффа (фуксинсернистой кислоты) методом дот-блоттинга на нитроцеллюлозных мембранах как описано ранее (Thronton et al., 1996; Averina, Snegireva, 1980). В качестве положительного контроля использовали раствор внеклеточной дрожжевой инвертазы (0.5 мг/мл), а в качестве отрицательного – 0.5 мг/мл БСА.

**Определение тромболитического эффекта препарата.** Формировали фибриновый сгусток в пробирках типа “Эппендорф” путем добавления в каждую пробирку 100 мкл человеческой плазмы и 20 мкл тромбина, фиксировали массу пробирки до, во время (после каждого этапа) и после эксперимента. Добавляли к каждому образцу фибринового сгустка препарат протеиназ *T. inflatum* 62a и фиксировали изменение массы через равные промежутки времени (30, 60 и 90 мин). По остаточной массе сгустка (выраженной в % от первоначальной массы сгустка) определяли степень протекания тромболитического процесса в образцах с течением времени (Kotb et al., 2015).

**Препаративный электрофорез белков.** Электрофоретическое разделение белков полученного препарата проводили в ПААГ по методу Дэвиса в Трис-глициновом буфере, рН 8.3, с концентрацией акриламида в верхнем геле 6.0% и в нижнем – 7.5%. Гель прокрашивали 0.08%-м р-ром Кумасси бриллиантового голубого G-250 в 3.5%-й хлорной кислоте (Holbrook and Leaver, 1976).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Изолят штамма микромицета, выделенный из почв Белого моря, идентифицировали по морфологическим, культуральным и генетическим признакам (методом ПЦР и последующим секвени-

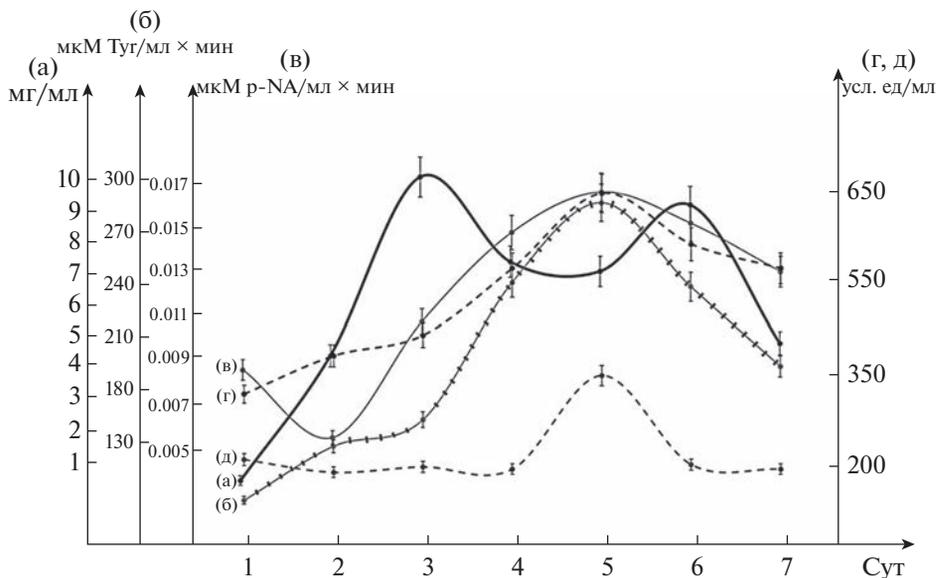
рованием участка ITS рДНК). В соответствии с результатом исследования последовательности 5.8S рРНК было установлено, что выделенный штамм был схож с другим ранее описанным штаммом *T. inflatum* (gene bank ID no: MH864514.1, идентичность – 99%; покрытие последовательности – 92%), однако по совокупности генетических и культуральных признаков было установлено, что выделенный из грунтов Белого моря штамм является уникальным и ему был присвоен номер 62a.

Динамику накопления протеиназ, образуемых штаммом микромицета *T. inflatum* 62a, изучали в течение 7 сут при глубинном культивировании на орбитальном шейкере при температуре 28°C, ежедневно определяя концентрацию белка, фибринолитическую, активаторную к плазминогену и общую протеолитическую активность. Как видно из рис. 1, максимальные значения концентрации белка достигались на третьи и шестые сут культивирования, а максимумальные значения фибринолитической (700.2 усл. ед/мл), активаторной к плазминогену (367.13 усл.ед/мл) и общей протеолитической активности (казеинолитической, 319.5 мкмоль Туг/мл × мин) для данного микромицета совпадали по времени и приходились на пятые сут. При этом на пятые сут культивирования не происходило значительного снижения концентрации белка (рис. 1). В связи с этим для дальнейших экспериментов получали препарат внеклеточных протеиназ микромицета при его культивировании в течение пяти сут.

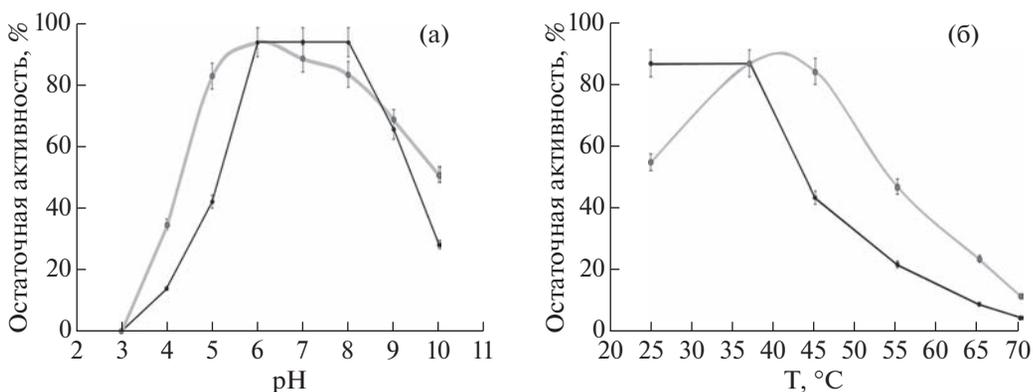
Определение температурного оптимума активности исследуемого препарата протеиназ *T. inflatum* 62a выявило его активность в интервале температур 25–55°C. Максимальную активность препарата наблюдали при 35–37°C. При температуре 65°C и более активность препарата практически отсутствовала. Изучение термостабильности исследуемого препарата показало, что препарат сохранял активность при температуре от 25 до 37°C в течение 2 ч. При температуре 45°C активность уже значительно снижалась (на 50%), и полностью отсутствовала при 65°C (снижение на 90%) (рис. 2a).

Определение зависимости активности препарата протеиназ *T. inflatum* 62a от рН показало, что он проявляет активность в интервале рН от 4.0 до 8.5. При более низких значениях рН (3.0 и ниже) препарат не был активен, в щелочных условиях практически полностью инактивировался при рН 11.0. Максимальное значение активности наблюдали при рН 6.0–7.0. Препарат был стабилен в интервале рН 6.0–8.0 в течение 2 ч, сохраняя 100% активности фермента. При рН 9.0 за то же время активность сохранялась лишь на 45% (рис. 2б).

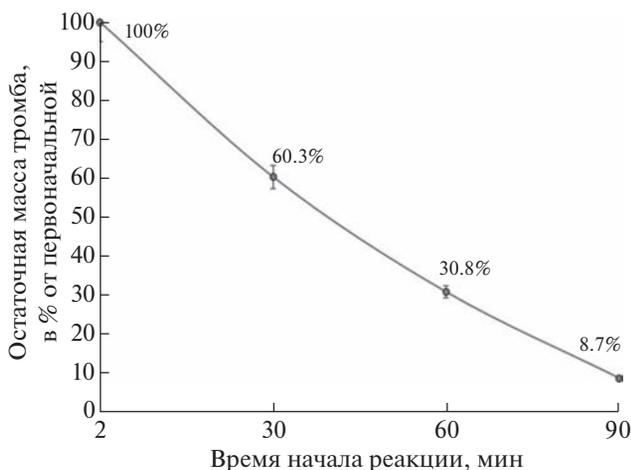
Таким образом, согласно полученным экспериментальным данным, оптимум действия протеиназ препарата *T. inflatum* 62a находится в пределах физиологических параметров крови человека (Т ~ 36.6°C, рН ~ 7.5).



**Рис. 1.** Динамика накопления препарата протеиназ штаммом *Tolypocladium inflatum* 62a: а – содержание белка, мг/мл; б – казеинолитическая активность, мкмоль Туг/мл × мин; в – активность с dVal-Leu-Lys-pNA, мкмоль рNA/мл × мин; г – фибринолитическая активность, усл.ед/мл; д – активаторная к плазминогену активность, усл.ед/мл.



**Рис. 2.** Влияние pH (а) и температуры (б) на активность (черный график) и стабильность (серый график) препарата внеклеточных протеиназ микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a.



**Рис. 3.** Определение степени тромболитиза во времени препарата протеиназ микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a.

Тромболитический потенциал белкового препарата, полученного из культуральной жидкости микромицета *T. inflatum* 62a, определяли в экспериментах по изучению тромболитиза в условиях *in vitro*. В результате эксперимента через 30 мин лизис фибринового сгустка составлял 39.7% (первоначальная масса фибринового сгустка под действием препарата уменьшилась на 39.7%); через 60 мин составлял 69.2%; а через 90 мин составил 91.3% (рис. 3). Данные показатели позволяют говорить в целом о высокой тромболитической активности полученного препарата.

Для разделения комплексного препарата белков, образуемых микромицетом *T. inflatum* 62a, использовали метод изоэлектрофокусирования (ИЭФ) в интервале pH амфолинов 2.5–10.0. В результате ИЭФ препарата белков (удельная протеолитическая активность – 2.3 Е/мл × 10<sup>-3</sup>), полученного после глубинного культивирования (рис. 4),

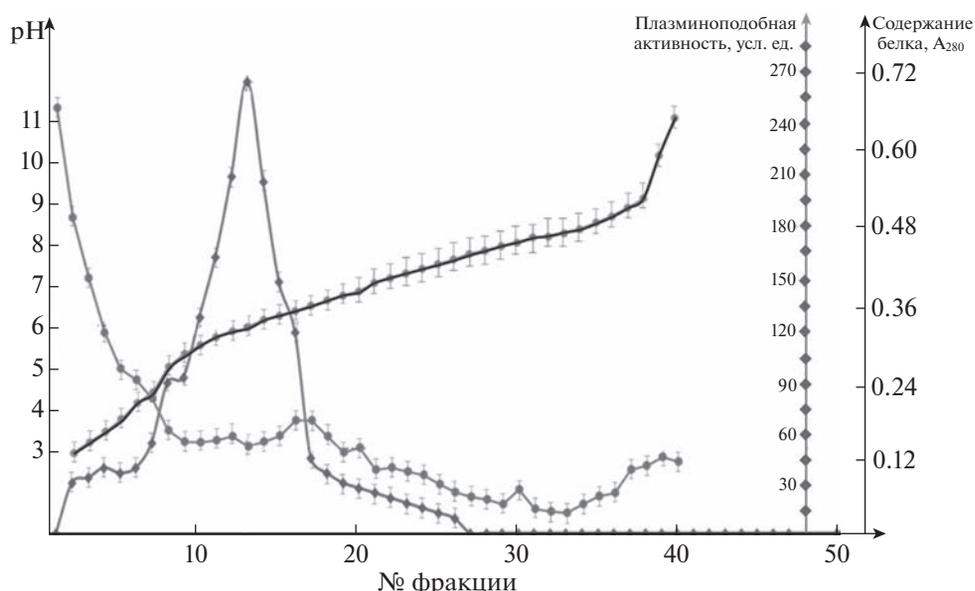


Рис. 4. Изоэлектрофокусирование препарата протеиназ *Tolypocladium inflatum* 62a.

было обнаружено, что фракции, обладающие максимальными значениями искомых типов активности — фибринолитической, активаторной к плазминогену и казеинолитической — сходились к колонки единым пиком и имели изоэлектрическую точку (pI) 5.65–5.85. Дальнейшие эксперименты проводили с фракцией № 13 (pI — 5.75), значения тромболитической активности которой были наибольшими. Удельная протеолитическая активность протеиназы составила  $0.78 \text{ Е/мл} \times 10^{-3}$ . Фибринолитическая и активаторная к плазминогену активность, определенные для фракции № 13, оказались выше, чем для аналогичных параметров препарата протеиназ и культуральной жидкости, и составили для данной фракции значения 597 усл. ед./мг и 413 усл. ед./мг белка соответственно.

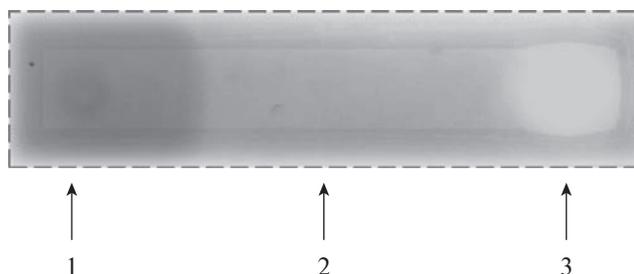
Также специфическую протеолитическую активность фракции № 13 исследовали с помощью специфических хромогенных субстратов — п-нитроанилидов. Полученные результаты представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, выделенная протеиназа оказалась способна расщеплять молекулы субстратов по остаткам лизина и лейцина и практически неспособной расщеплять молекулы субстрата по остаткам аргинина.

Определение углеводного компонента методом дот-блоттинга у изучаемой протеиназы с помощью реакции на гликопротеины показало, что она не гликозилирована (рис. 5). Отсутствие данной посттрансляционной модификации позволяет рассматривать потенциальную возможность клонирования и экспрессии гена, кодирующего образо-

Таблица 1. Активность внеклеточной протеиназы *Tolypocladium inflatum* 62a по отношению к белкам системы гемостаза человека

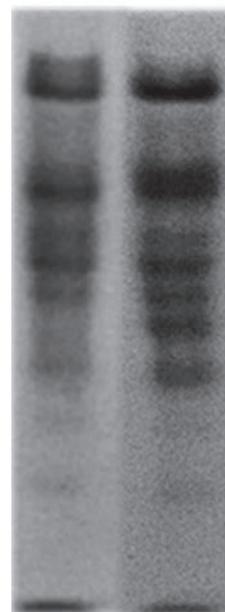
Тип активности	Хромогенный субстрат	Удельная активность, $\text{Е/мл} \times 10^{-3}$ *	
		препарат	выделенная протеиназа (фракция № 13)
Урокиназная	pGlu-Gly-Pro-Arg-pNA	1.70	0
Тромбиноподобная	Tos-Gly-Pro-Arg-pNA	2.42	—
Плазминоподобная	dVal-Leu-Lys-pNA	5.93	27.21
Фактор Ха-подобная	HD-Ile-Pro-Arg-pNA	1.07	0
Сериновых протеаз	Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA	2.20	—
Субтилизинподобная	Z-Ala-Ala-Leu-pNA	3.11	14.01
Эластазная	Suc-Ala-Ala-Ala-pNA	0.87	—
Трипсиноподобная	Bz-Arg-pNA	0.30	0
Плазминоподобная	For-Ala-Phe-Lys-pNA	3.34	8.80

Примечание. \*Знаком “—” отмечены случаи, когда активность не определялась.



**Рис. 5.** Качественная реакция на гликопротеины: 1 – положительный контроль (инвертаза); 2 – фракция № 13; 3 – отрицательный контроль (БСА).

k1 62a



**Рис. 6.** Электрофорез препаратов протеиназ штаммов *Tolypocladium inflatum* k1 (слева) и 62a (справа).

вание протеиназы, в прокариотических клетках (Porova et al., 2015).

По результатам экспериментов по свертываемости фибриногена человека и быка, а также в аналогичных экспериментах с плазмой человека и плазмой кролика под действием протеиназы *T. inflatum* 62a, в пробе не наблюдали наличие фибринового волокна (по сравнению с контрольным случаем при добавлении тромбина). На основании этого можно заключить, что у протеиназы отсутствовала коагулазная активность, что является характерным для любых фибринолитических субстанций (табл. 2).

Электрофоретическое исследование препаратов протеиназ, выделенных из культуральной жидкости исследуемого штамма микромицета *T. inflatum* 62a проводили в сравнении с препаратом протеиназ микромицета *T. inflatum* k1, для которого ранее было показано наличие тромболитической активности (Sharkova et al., 2016). Согласно полученным данным, электрофореграмма внеклеточных белков штамма *T. inflatum* 62a соотносится с электрофореграммой белков *T. inflatum* k1. На рис. 6 видно, что соотношение, количество и характер расположения белковых полос у препаратов этих двух штаммов рода *Tolypocladium* является схожим, что, вероятно, может указывать также и на схожесть секретируемых в культуральную жидкость белков при глубинном культивировании, находящихся в составе полученных препаратов, а также на характер их тромболитического эффекта.

Согласно полученным экспериментальным данным, возможно выделить ряд сходств и различий между препаратами протеиназ штаммов микромицетов *T. inflatum* 62a и *T. inflatum* k1: в экспе-

риментах по тромболитису препараты обоих штаммов микромицетов показали высокую эффективность при сходной удельной протеолитической активности.

Температурные оптимумы и рН оптимумы препаратов протеиназ *T. inflatum* 62a и *T. inflatum* k1 очень близки и находятся в пределах физиологических параметров крови человека, что делает их пригодными для использования в тромботерапии и диагностике патологий системы гемостаза и позволяет исключить инактивацию или недостаточную эффективность воздействия вследствие определенных свойств крови.

Сопоставление свойств протеиназ штаммов-продуцентов представлено в табл. 3. Как видно из таблицы, протеиназа *T. inflatum* 62a проявляет большие значения фибринолитической и активаторной к плазминогену активности, чем протеиназа *T. inflatum* k1.

Для протеиназы *T. inflatum* 62a также отмечалась высокая в сравнении с протеиназой *T. inflatum* k1 плазминоподобная активность, помимо этого, она, так же, как и протеиназа *T. inflatum* k1, хоть и в меньшей степени, обладала субтилизин-

**Таблица 2.** Свертывание фибриногена и плазмокоагулирующая активность протеиназы *Tolypocladium inflatum* 62a

Проба	Фибриноген быка	Фибриноген человека	Плазма кролика	Плазма человека
Протеиназа <i>T. inflatum</i> 62a	–	–	–	–
Контроль (тромбин)	+	+	+	+

**Таблица 3.** Сравнение протеиназ микромицетов *Tolyposcladium inflatum* 62a и *T. inflatum* k1

Параметр	Протеиназа <i>T. inflatum</i> 62a	Протеиназа <i>T. inflatum</i> k1 (Sharkova et al., 2016)
Фибринолитическая активность, усл.ед/мг белка	597.0	582.0
Активаторная к плазминогену активность, усл.ед/мг белка	413.0	373.0
Активность по отношению к белкам системы гемостаза (удельная активность, Е/мл × 10 <sup>-3</sup> )	Плазминоподобная (27.2), субтилизинподобная (14.0)	Тромбиноподобная (6.4), плазминоподобная (10.6), субтилизинподобная (11.3), эластазная (19.3)
pI фракции	5.7	10.7
Реакция на гликопротеины	Не гликозилирована	Не гликозилирована
Коагулазная активность	Отсутствует	Отсутствует

подобной активностью. В отличие от протеиназы *T. inflatum* 62a, для фракции протеиназы *T. inflatum* было отмечено наличие тромбиноподобной и выраженной эластазной активности.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным, штамм микромицета *T. inflatum* 62a может быть использован в качестве перспективного продуцента тромболитических ферментов для создания новых лекарств или диагностических наборов на их основе.

С молекулярно-генетической точки зрения микромицеты вида *Tolyposcladium inflatum* наиболее известны, как продуценты циклоспорина, однако в недавних исследованиях также было показано, что данный вид продуцирует и другие биоактивные вторичные метаболиты, включая инсектицидные соединения, такие как эфрапептины и толипин, дикетопиперазины и карбоксистерин, антибиотик эргоконин С и другие ранее не исследованные классы ферментов, к которым могут относиться и соединения, обладающие тромболитической активностью (Khalidi et al., 2010).

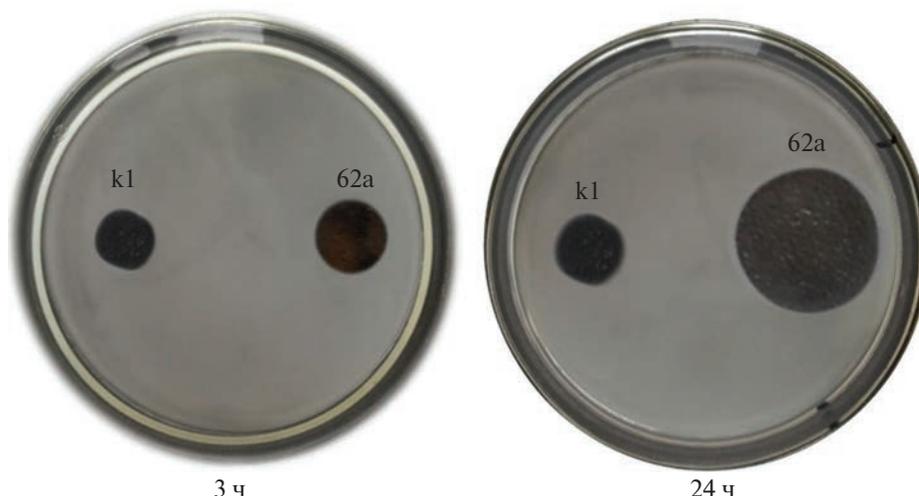
С точки зрения тромболитического потенциала, штамм *T. inflatum* 62a продемонстрировал способность синтезировать протеолитические ферменты, активные в отношении белков системы гемостаза. Препарат, выделенный из культуральной жидкости микромицета, после культивирования на среде с глицерином демонстрировал высокую тромболитическую активность в отношении фибриновых сгустков, будучи стабильным в физиологических интервалах значений температуры и рН. Протеиназа, полученная после изоэлектрофокусирования, проявляла высокую фибринолитическую и активаторную к плазминогену активность, превосходящую по своим значениям протеиназу ближайшего штамма-аналога *T. inflatum* k1. Также данная протеиназа была активна в диапазоне рН, близком к естественному рН крови, и обладала

помимо выраженной плазминоподобной, также и эластазной активностью, что говорит о высоком потенциале для применения ее с целью купирования тромботических состояний.

Другой уникальной особенностью, как препарата, так и выделенной протеиназы, можно считать “продолжительный тромболитический эффект”. Особенностью данного эффекта являлось то, что в течение 24 ч после взаимодействия препарата с фибриновым гелем происходил постепенный стабильно возрастающий лизис фибрина, достигая максимума через сутки после аппликации вплоть до полного разрушения фибриновой пластины. Данный эффект не был характерным для препарата протеиназ *T. inflatum* k1 (в его случае полная терминация лизиса фибринового геля происходила в течение 3–4 ч после аппликации) (рис. 7).

Подобный эффект может найти применение в препаратах пролонгированного действия, как при наружном применении в составе гелей против гематом и раневых повязок, так и в случаях, требующих длительного применения тромболитического средства при профилактике тяжелых тромботических состояний, позволяя значительно сократить количество вводимого препарата, тем самым уменьшая риск кровотечений при применении.

Применение тромболитических субстанций для наружного применения возможно, например, в комбинации с гепарином для повышения стабильности субстанции и увеличения тромболитического эффекта. Особенно актуальным это могло бы быть в случае терапии тромбозов глубоких и поверхностных вен конечностей, флеботромбозов и тромбофлебитов, а также в случае профилактики тромбоэмболии легочной артерии и инфаркта миокарда. Так, например, подобный подход применялся для препарата внеклеточных протеиназ микромицета *Arthrobotrys longa* – лонголитина. Опыты *in vitro* и *in vivo* показали, что гепарин в сочетании с лонголитинном не только проявляет



**Рис. 7.** Тромболитический эффект препаратов микромицетов *Tolypocladium inflatum* k1 (слева на чашке) и *T. inflatum* 62a (справа на чашке) через 3 ч и через 24 ч после аппликации на фибриновый гель.

свойственную ему антикоагулянтную активность, но и ускоряет время тромболитического действия. А сам лонголитин, кроме фибринолитического действия, обладает широким спектром антикоагулянтной активности, во-первых, снижая агрегацию тромбоцитов *in vitro* и *in vivo*, во-вторых, ингибируя гемостаз в плазме *in vivo* в присутствии гепарина (Sharkova, 2014). Механизм наружного применения основан на способности лонголитина проникать через эпидермис и подлежащие мягкие ткани в систему микроциркуляции и системный кровоток и вызывать адекватные физиологические и биохимические реакции (Podgolskaya, 2002).

Продемонстрированные препаратом штамма *T. inflatum* 62a фибринолитические и активаторные к плазминогену свойства могут найти применение для диагностики патологий системы гемостаза. Существующие на рынке диагностические наборы предполагают использование тромболитического агента в своем составе и отличаются довольно высокой стоимостью за одно исследование. Использование препарата *T. inflatum* 62a в качестве тромболитического агента может позволить снизить стоимость набора за счет более простого и менее затратного процесса наработки субстанции.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Averina A.V., Snegiryova A.Ya. Laboratory workshop on organic chemistry. Vysshaya shkola, Moscow, 1980 (in Russ.).
- Baker W.F. Jr. Thrombolytic therapy. Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2002. V. 8 (4). P. 291–314. <https://doi.org/10.1177/107602960200800401>
- Balami J.S., Chen R., Sutherland B.A. et al. Thrombolytic agents for acute ischaemic stroke treatment: the past, present and future. CNS Neurol. Disord. Drug. Targets. 2013. V. 12 (2). P. 145–154. <https://doi.org/10.2174/18715273113129990057>
- Batomunkueva B.P., Egorov N.S. Isolation, purification and resolution of the extracellular proteinase complex of *Aspergillus ochraceus* 513 with fibrinolytic and anticoagulant activities. Microbiology. 2001. V. 70 (5). P. 519–522 (in Russ.).
- Bissett J. Notes on *Tolypocladium* and related genera. Can. J. Bot. 1983. V. 5. P. 1311–1329. <https://doi.org/10.1139/b83-139>
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. Compendium of soil fungi, 2nd ed. IHW-Verlag, Eching, 2007.
- Fokichev N.S., Kornienko E.I., Sharkova T.S. et al. Thrombolytic activity and properties of the proteinase produced by the micromycete *Tolypocladium inflatum* k1. Mikologiya i fitopatologiya. 2021. V. 55. № 6. P. 449–456. <https://doi.org/10.31857/S002636482106009X>
- Hao Q., Dong B.R., Yue J. et al. Thrombolytic therapy for pulmonary embolism. Cochrane Database Syst. Rev. 2018. V. 12. P. 1–105. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004437.pub5>
- Holbrook I.B., Leaver A.G. A procedure to increase the sensitivity of staining by Coomassie Brilliant Blue G-250 – perchloric acid solution. Anal. Biochem. 1976. V. 75 (2). P. 634–636.
- Khalidi N., Seifuddin F.T., Turner G. et al. SMURF: Genomic mapping of fungal secondary metabolite clusters. FG and B. 2010. V. 47. P. 736–741. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.06.003>
- Kotb E., Helal G.E.-D.A., Edries F.M. Screening for fibrinolytic filamentous fungi and enzymatic properties of the most potent producer, *Aspergillus brasiliensis* AUMC 9735. Biologia. 2015. V. 70 (12). P. 1565–1574. <https://doi.org/10.1515/biolog-2015-0192>
- Osmolovskiy A.A., Kreier V.G., Kurakov A.V. et al. *Aspergillus ochraceus* micromycetes – producers of extracellular proteinases – protein C activators of blood plasma. Appl. Biochem. Microbiol. 2012. V. 48 (5). P. 488–492.
- Osmolovskiy A.A., Kreier V.G., Baranova N.A. et al. Production of extracellular proteinases – protein C activators of blood plasma – by the micromycete *Aspergillus ochraceus* during submerged and solid-state fermentation. Appl. Biochem. Microbiol. 2013. V. 49 (6). P. 580–586.
- Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreier V.G. et al. Fibrinolytic and collagenolytic activity of extracellular proteinases of the strains of micromycetes *Aspergillus ochraceus* L-1

- and *Aspergillus ustus* 1. Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2016. Vol. 71 (1). P. 62–66.
- Podorolskaya L.V., Serebryakova T.N., Sharkova, T.S. Experimental thrombosis in rabbit marginal ear vein and evaluation of the thrombolytic action of longolytin. Bull. Exp. Biol. Med. 2007. V. 143. P. 577–580. <https://doi.org/10.1007/s10517-007-0184-x>
- Popova E.A., Osmolovskiy A.A., Kreier V.G. et al. Production by *Aspergillus ustus* strain of proteinases highly active against fibrillar proteins. Mikrobiologiya i fitopatologiya. 2019. V. 53 (4). P. 229–235. <https://doi.org/10.1134/S0026364819040111>
- Seifert K.A., Gams W. The genera of *Hyphomycetes*—2011 update. Persoonia. 2011. V. 27. P. 1–119. <https://doi.org/10.3767/003158511X617435>
- Sharkova T.S., Kornienko E.I., Osmolovskiy A.A. et al. Morphological and physiological properties of the micromycete *Arthrobotrys longa*, a producer of longolytin, a proteolytic complex with a thrombolytic effect. Microbiology. 2016a. V. 85 (2). P. 171–176.
- Sharkova T.S., Matveeva E.O., Kreier V.G. et al. Production of proteinase – plasminogen activators by micromycete *Tolypocladium inflatum* k1. Appl. Biochem. Microbiol. 2016b. V. 52 (1). P. 31–35.
- Thronton D.J., Carlstadt I., Sheehan J.K. Identification of glycoproteins on nitrocellulose membranes and gels. Mol. Biotechnol. 1996. V. 5 (2). P. 171–176.
- White T.J., Bruns T.D., Lee S.B. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA. In: Genes for phylogenetics PCR. Protocols and applications. A laboratory manual, 1st ed. Cambridge, Academic Press, 1990, pp. 315–322.
- World Health Organization. 2022. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>. Accessed 12.09.2022.
- Аверина А.В., Снегирева А.Я. (Averina, Snegireva) Лабораторный практикум по органической химии. М.: Высшая школа, 1980. 184 с.
- Батомункуева Б.П., Егоров Н.С. (Batomunkueva, Egorov) Выделение, очистка и разделение комплекса внеклеточных протеиназ *Aspergillus ochraceus* 513 с фибринолитической и антикоагулянтной активностью // Микробиология. 2001. Т. 70. № 5. С. 519–522.
- Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Кураков А.В. и др. (Osmolovskiy et al.) Микромикеты *Aspergillus ochraceus* – продуценты внеклеточных протеиназ – активаторов протеина С плазмы крови // Прикл. биохим. микробиол. 2012. Т. 48. № 5. С. 488–492.
- Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А. и др. (Osmolovskiy et al.) Продукция внеклеточных протеиназ – активаторов протеина С плазмы крови – микромикетом *Aspergillus ochraceus* в ходе глубокой и твердофазной ферментации // Прикл. биохим. микробиол. 2013. Т. 49. № 6. С. 580–586.
- Поддорольская Л.В., Шаркова Т.С., Андреев Г.В. и др. (Podorolskaya et al.) Гемостаз и фибринолиз при наружном применении тромболитического препарата лонголитина // Вестник МГУ. Серия биология. 2002. № 2. С. 11–15.
- Попова Е.А., Осмоловский А.А., Крейер В.Г. и др. (Popova et al.) Продукция штаммом *Aspergillus ustus* протеиназ, активных в отношении фибриллярных белков // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 4. С. 229–235.
- Фокичев Н.С., Корниенко Е.И., Шаркова Т.С. и др. (Fokichev et al.) Тромболитическая активность и свойства препарата протеиназ, образуемых микромикетом *Tolypocladium inflatum* k1 // Микология и фитопатология. 2021. Т. 55. № 6. С. 449–456.
- Шаркова Т.С., Корниенко Е.И., Осмоловский А.А. и др. (Sharkova et al.) Морфофизиологические особенности микромикета *Arthrobotrys longa* – продуцента протеолитического комплекса тромболитического действия лонголитин // Микробиология. 2016. Т. 85. С. 171–176.
- Шаркова Т.С., Матвеева Э.О., Крейер В.Г. и др. (Sharkova et al.) Образование протеиназ – активаторов плазминогена микроскопическим грибом *Tolypocladium inflatum* k1 // Прикладная биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 1. С. 31–35.

## Investigation of the Thrombolytic Potential of Exoproteinases Produced by the Micromycete *Tolypocladium inflatum* 62A Isolated from the Soils of the White Sea

N. S. Fokichev<sup>a, #</sup>, E. I. Kornienko<sup>a, ##</sup>, V. G. Kreier<sup>a, ###</sup>, and A. A. Osmolovskiy<sup>a, ####</sup>

<sup>a</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

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

<sup>##</sup>e-mail: aljnka-93@mail.ru

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

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

Thrombolytic properties of the micromycete *Tolypocladium inflatum* 62a isolated from the White Sea soils exoproteinases preparation, as well as its individual fractions, obtained after isoelectric focusing, were studied in comparison to the closest analogue, the producer of thrombolytic enzymes *T. inflatum* k1. A pronounced thrombolytic potential, the presence of fibrinolytic and plasminogen activator activity, specific proteolytic activity with respect to certain substrates (plasmin-like and subtilisin-like) as well as a prolonged thrombolytic effect in connection to fibrin clots were demonstrated, which can be used in the development of new drugs for the thrombotic conditions treatment, the development of anti-hematoma drugs for external use as well as diagnostic kits for the pathology of the human hemostasis system.

**Keywords:** extracellular proteinases, fibrinolytic enzymes, hemostasis system, micromycetes, thrombolysis, thrombotherapy

УДК 575.18: 582.287.238

## АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ *MATA* ЛОКУСА ПОЛОВОЙ СОВМЕСТИМОСТИ У СЪЕДОБНОГО БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *PLEUROTUS OSTREATUS*

© 2023 г. А. В. Шнырева<sup>1,\*</sup>, А. А. Шнырева<sup>1,\*\*</sup><sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119234 Москва, Россия

\*e-mail: ashn@mail.ru

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

Поступила в редакцию 10.02.2022 г.

После доработки 25.08.2022 г.

Принята к публикации 22.12.2022 г.

Съедобный гриб вешенка устричная (*Pleurotus ostreatus*) широко культивируется по всему миру. Морфогенез, связанный с образованием плодовых тел, находится под генетическим контролем двух несцепленных локусов половой совместимости *matA* и *matB* со множественными аллелями (тетраполярная система половой совместимости). Генетический анализ встречаемости аллелей локусов половой совместимости у 17 природных изолятов, собранных в Московской обл., показал мультиаллельность обоих локусов — 10 аллелей *matA* локуса и 8 аллелей *matB* локуса. Анализ *in silico* структурной организации локуса *matA* у монокариотических штаммов *P. ostreatus* PC9 и PC15 на основе данных полногеномного секвенирования (DOE Joint Genome Institute) показал чрезвычайно дивергентную его структуру: *matA* локус штамма PC9 представлен одной копией гена *hd1* и одной копией гена *hd2*, в то время как *matA* локус штамма PC15 имеет две копии *hd1.1* и *hd1.2* (класс HD1 белков) и одну копию *hd2* (класс HD2 белков). Анализ аминокислотных последовательностей гомеодоменных белков HD1 и HD2 показал, что белки обладают глобулярной структурой, характеризуются ядерной локализацией и содержат консервативный N-конец и более консервативный ДНК-связывающий домен с характерным консервативным мотивом WFXNXXR в третьей α-спирали. Полученные результаты позволяют утверждать, что мультиаллельность *matA* локуса половой совместимости достигается как за счет копийности кодирующих генов в пределах локуса, так и за счет вариабельности кодирующих генных последовательностей.

**Ключевые слова:** базидиомицеты, гомеодоменные факторы транскрипции, локусы половой совместимости, половая совместимость

DOI: 10.31857/S0026364823020101, EDN: NJGWOQ

### ВВЕДЕНИЕ

Для большинства гомобазидиальных грибов характерен гаплоидно-дикариотический жизненный цикл, который представлен двумя чередующимися фазами — монокариотической (гаплоидной) и дикариотической (функционально диплоидной). Плодовые тела могут образовываться исключительно на дикариотическом мицелии. В фертильной части плодовых тел на базидиях формируются гаплоидные базидиоспоры, которые прорастают гаплоидным монокариотическим мицелием, который не способен образовывать плодовые тела. Для образования фертильного (плодоносящего) дикариотического мицелия должно произойти слияние двух совместимых по полу гаплоидных мицелиев, которые гетероаллельны по двум несцепленным локусам (*matA* и *matB*) с множественными аллелями (AxVx, AyVy) (Zervakis, Balis, 1996; Shnyreva et al, 2012). Ранее нами в природных популяциях грибов вешенок рода *Pleurotus* в Московской и Воронежской областях было обнаруже-

но 37 аллелей *matA* локуса и 35 аллелей *matB* локуса для вида *P. pulmonarius* и 24 аллеля *matA* и 21 аллель *matB* локуса для *P. ostreatus* (Shnyreva et al., 1998; Shnyreva, Shtaeer, 2006). Мультиаллельность A и B локусов отмечена и для других видов: *P. djamor* (58 *matA* и 231 *matB*), *P. populinus* (126 *matA* и 354 *matB*) (Anderson et al., 1991; James et al, 2004). Локусы *matA* и *matB* отличаются по структуре и обладают разными регуляторными функциями. Из исследований, проведенных на модельных базидиальных грибах *Coprinopsis cinerea* и *Schizophyllum commune*, известно, что локус *matA* кодирует два типа гомеодоменных транскрипционных факторов (HD1 и HD2), а локус *matB* кодирует гены феромонов и рецепторов феромонов (Raudaskoski, Kothe, 2010). Наиболее хорошо изученным является *matB* локус в силу того, что закодированные в нем гены феромонов и рецепторов феромонов обладают консервативной структурой. Гены локуса *matA*, в отличие от *matB*, очень вариабельны по нуклеотидным последовательностям, вследствие чего их изучение затруднено. Структурная орга-

низация локуса *matA* была детально изучена на модельном объекте *Coprinosia cinerea*, у которого в пределах локуса имеется три пары генов; при этом каждая пара генов (кассета) кодирует два типа гомодоменных транскрипционных факторов (HD1 и HD2) (Casselton, Kues, 2007). Однако у изученных видов базидиальных грибов редко можно встретить структуру *matA* локуса с полным набором всех трех пар генов (кассет). В пределах кассет локуса часто встречаются делеции одного из *hd* генов или же, наоборот, в одном локусе *matA* могут быть закодированы от одной копии *hd1* или *hd2* генов до нескольких, например, как у гомобазидиальных грибов *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Fomitiporia mediterranea*, *Schizophyllum commune*, *Hypsizygus marmoreus* (James et al., 2013; Raudaskoski, 2015; Wang et al., 2016; Wang et al., 2021). В результате димеризации двух совместимых HD1-HD2 белков от разных половых партнеров (монокарионов) образуется активный гетеродимерный транскрипционный фактор, который запускает экспрессию специфических для развития дикариона генов, а также подавляет специфические “монокариотические” гены, функционирующие в гаплоидном мицелии.

Целью исследования было провести количественную оценку аллелей локусов половой совместимости у природных изолятов вешенки, собранных на ограниченной территории, и оценить общее аллельное разнообразие, а также провести анализ *in silico* структуры *matA* локуса половой совместимости *Pleurotus ostreatus* на основе данных полногеномного секвенирования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Сбор и культивирование природных изолятов *Pleurotus ostreatus*

Плодовые тела вешенки устричной (*P. ostreatus*) собирали на территории Звенигородской биостанции МГУ Московской обл. в августе 2018 г. с различных субстратов – осины, березы, рябины. Из плодовых тел было получено 17 мицелиальных дикариотических изолятов, которые были депонированы в коллекцию кафедры микологии и альгологии МГУ. Культивирование штаммов и проведение скрещиваний осуществляли на чашках Петри с сусло-агаром (150 мл пивного сусла, 850 мл воды, 20 г агара) при 25°C в темноте.

### Генетический анализ разнообразия аллелей локусов половой совместимости у природных штаммов *Pleurotus ostreatus*

**Получение стерильных базидиоспоровых отпечатков.** Для проведения генетического анализа половой совместимости была отработана методика получения плодовых тел и стерильных споровых отпечатков непосредственно на чашках Петри.

Для этого мицелий инокулировали в центре чашки Петри и инкубировали в темноте при 25°C до полного зарастания мицелием поверхности чашки Петри (приблизительно 7–8 сут). После этого чашки Петри помещали в холодильник при температуре 4°C на двое сут для стимуляции плодобразования холодом, после чего продолжали инкубировать перевернутыми при комнатной температуре (23–25°C) и естественном освещении со сменой “день – ночь”. В среднем на 10–14-е сут отмечали появление на поверхности мицелия миниатюрных плодовых тел и споровых отпечатков базидиоспор на крышке чашки Петри.

**Получение гаплоидных тестеров половой совместимости и количественная оценка аллельного разнообразия локусов.** Для проведения генетического анализа встречаемости аллелей локусов половой совместимости у природных штаммов *P. ostreatus* получали гаплоидные тестеры половой совместимости (типов спаривания) согласно стандартной методике с использованием базидиоспоровых расщепов, полученных из стерильных споровых отпечатков на чашках Петри (Shnyreva et al., 1998). Количественную оценку аллелей факторов половой совместимости осуществляли с использованием полученных монобазидиоспоровых гаплоидных тестерных штаммов, гетероаллельных по А и В факторам половой совместимости в мон-мон и ди-мон скрещиваниях (Shnyreva et al., 1998). Мон-мон скрещивания проводили между монокариотическими тестерами (по четыре тестерных штамма АхВх, АуВу, АхВу, АуВх для каждого природного изолята). Ди-мон скрещивания осуществляли между дикариотическими природными штаммами и четырьмя тестерами вида *P. ostreatus* (штамм М-38) из нашей коллекции.

### Анализ *in silico* структуры *matA* локуса половой совместимости

**Анализ структуры *matA* локуса у видов рода *Pleurotus*.** Для проведения структурного анализа *matA* локуса *in silico* были взяты последовательности из электронных баз: последовательности *matA* локуса монокариотических штаммов PC9 и PC15 *P. ostreatus* (Joint Genome Institute, <http://jgi.doe.gov/>); последовательности монокариотических штаммов RV95/134.104 и RV95/957.30 *P. djamor* (номера в ГенБанке AY462112, AY462111); последовательности монокариотических штаммов CCMSSC00488 и CCMSSC00489 *P. eryngii* (номера в ГенБанке HQ595186, HQ595187). Для проведения множественных выравниваний и поиска гомологий между последовательностями использовали программу Dialign 2.2.1 (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/dialign>) (Morgenstern, 2004).

**Анализ структуры *matA* локуса *Pleurotus ostreatus*.** Структурные и функциональные особенности HD белков изучали на основе аминокислотных последовательностей.

довательностей гомеодоменных белков *matA* локуса штаммов PC9 и PC15 *P. ostreatus*, геномы которых полностью секвенированы и опубликованы на сайте DOE JGI (Joint Genome Institute, <http://genome.jgi.doe.gov/>). Для предсказания наличия сигнальных последовательностей использовали программы SignalP 4.1 ([www.cbs.dtu.dk/services/SignalP](http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP)) и PSORT (алгоритм k-Nearest Neighbors Classifier) (Petersen et al., 2011). Для предсказания структуры белка (глобулярная или трансмембранная, наличие трансмембранных доменов, поверхностных петель), основанной на гидрофильности/гидрофобности аминокислотных последовательностей, использовали программу Kyte Doolittle Hydropathy Plot (<http://gcat.davidson.edu/DGPB/kd/kyte-doolittle.htm>) (Kyte, Doolittle, 1982). Для предсказания структурной организации белковой молекулы (вторичной структуры) использовали программу SWISS-MODEL Secondary Structure Prediction and Domain Assignment (<http://swissmodel.expasy.org/workspace/index.php>) (Arnold et al., 2006).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Количественный анализ аллелей локусов половой совместимости у природных штаммов вешенки устричной *Pleurotus ostreatus*

Для пяти дикариотических природных изолятов (М-8, М-9, М-13, М-14 и М-17) были получены монокариотические (гаплоидные) тестерные штаммы (по четыре тестера для каждого природного штамма) и проведены мон-мон скрещивания с тестерами половой совместимости (штамм М-38) вида *P. ostreatus* (табл. 1). Во всех проведенных мон-мон скрещиваниях была продемонстрирована половая совместимость монокариотических тестерных штаммов, полученных из природных дикариотических штаммов, с тестерами М-38 *P. ostreatus*. Половую совместимость определяли по наличию характерных пряжек на мицелии в месте контакта монокариотических (гаплоидных) мицелиев, что свидетельствовало о дикариотизации монокарионов. Формирование пряжек в области септ является хорошим и удобным диагностическим признаком дикариотического мицелия у многих гомобазидиальных грибов, включая представителей рода *Pleurotus*. В нашем эксперименте половая совместимость со всеми четырьмя тестерами штамма М-38 указывала на то, что у скрещиваемых природных штаммов присутствовали различные аллели локусов *A* и *B* половой совместимости (табл. 1). Наличие различных аллелей у пяти природных штаммов (М-8, М-9, М-13, М-14 и М-17) было подтверждено также во взаимных скрещиваниях монокариотических тестеров природных дикариотических штаммов между собой во всех возможных комбинациях (табл. 2, представлены результаты для трех штаммов). При этом штаммы М-8 и М-9 были гетероаллельны по обоим локу-

сам половой совместимости (*matA* и *matB*), в то время как у штаммов М-8 и М-13 были обнаружены одинаковые аллели В-локуса (50% совместимых комбинаций в мон-мон скрещиваниях). Штаммы М-14 и М-17 были взаимно совместимы по полу как между собой, так и со штаммами М-8, М-9 и М-13 (данные в табл. 2 не представлены). Остальные 12 природных дикариотических штаммов были протестированы в ди-мон скрещиваниях, то есть в скрещиваниях дикарионов с монокариотическими тестерами штамма М-38 вида *P. ostreatus* (табл. 1). В случае совместимых по полу комбинаций в ди-мон скрещиваниях происходила дикариотизация монокариотического тестера, сопровождаемая образованием пряжек на монокариотическом мицелии.

Таким образом, при анализе 17 природных изолятов *P. ostreatus* обнаружили, по крайней мере, 10 аллелей *matA* локуса и 8 аллелей *matB* локуса, что согласуется с ранее полученными данными о мультиаллельности локусов половой совместимости в наших исследованиях и в работах других авторов (Anderson et al., 1991; Shnyreva et al., 1998; Larraya et al., 1999). В работе Сиволаповой с соавторами (Sivolapova et al., 20012) *mat* локусы *P. ostreatus* были прокартированы: *matA* локус расположен на III хромосоме, *matB* — на IX хромосоме.

### Анализ структуры *matA* локуса половой совместимости у представителей рода *Pleurotus*

Анализ структуры *matA* локуса половой совместимости провели для трех видов рода *Pleurotus* — *P. ostreatus*, *P. eryngii* и *P. djamor* — на основе данных по частично или полностью секвенированным геномам. Ранее при детальном структурном анализе *matA* локуса у модельного гриба *Coprinus cinerea* было показано, что локус кодирует гомеодоменные белки HD1 и HD2, которые являются факторами транскрипции, но при этом белки значительно различаются по структуре и аминокислотным последовательностям (Raudaskoski, Kothe, 2010; Kues et al., 2011). Оба класса гомеодоменных белков содержат три области с  $\alpha$ -спиральной структурой, третья из которых включает консервативный ДНК-связывающий мотив WFXNXXR; при этом последовательности ДНК-связывающего домена также различаются. Так, HD2 тип обладает высокой ДНК-связывающей активностью, в то время как HD1 обладает более слабой активностью, но при этом обладает сигналами ядерной локализации и активационным доменом (Raudaskoski, Kothe, 2010). Белки HD2 класса *C. cinerea* имеют типичную для гомеодоменов протяженность ДНК-связывающего домена в 60 аминокислот (а.к.), в то время как гомеодомены HD1 содержат три дополнительные аминокислоты между первой и второй  $\alpha$ -спиралями. Особо значимыми в структуре гомеодоменных белков HD1 и HD2 являются

**Таблица 1.** Оценка встречаемости аллелей локусов половой совместимости у природных изолятов *Pleurotus ostreatus* в мон-мон и ди-мон скрещиваниях

Природные штаммы				Гаплоидные тестеры М-38 <i>P. ostreatus</i>			
				m1*	m2	m3	m4
				<i>A1B1</i> **	<i>A1B2</i>	<i>A2B1</i>	<i>A2B2</i>
Мон-мон скрещивания монокариотических тестерных штаммов природных изолятов	Штамм М-8	m1	<i>A3B3</i>	+***	+	+	+
		m2	<i>A3B4</i>	+	+	+	+
		m3	<i>A4B3</i>	+	+	+	+
		m4	<i>A4B4</i>	+	+	+	+
	Штамм М-9	m1	<i>A5B5</i>	+	+	+	+
		m2	<i>A5B6</i>	+	+	+	+
		m3	<i>A6B5</i>	+	+	+	+
		m4	<i>A6B6</i>	+	+	+	+
	Штамм М-13	m1	<i>A7B7</i>	+	+	+	+
		m2	<i>A7B8</i>	+	+	+	+
		m3	<i>A8B7</i>	+	+	+	+
		m4	<i>A8B8</i>	+	+	+	+
	Штамм М-14	m1	<i>A9B9</i>	+	+	+	+
		m2	<i>A9B10</i>	+	+	+	+
		m3	<i>A10B9</i>	+	+	+	+
		m4	<i>A10B10</i>	+	+	+	+
	Штамм М-17	m1	<i>A11B11</i>	+	+	+	+
		m2	<i>A11B12</i>	+	+	+	+
		m3	<i>A12B11</i>	+	+	+	+
		m4	<i>A12B12</i>	+	+	+	+
Ди-мон скрещивания	Дикариотические штаммы		М-2	+	+	+	+
			М-3	+	+	+	+
			М-4	+	+	+	+
			М-5	+	+	+	+
			М-7	+	+	+	+
			М-15	+	+	+	+
			М-16	+	+	+	+
			М-18	+	+	+	+
			М-19	+	+	+	+
			М-20	+	+	+	+
			М-21	+	+	+	+
			М-22	+	+	+	+

Примечание: \*m – монокариотический тестерный штамм; \*\**AxBy* – аллели локусов половой совместимости; \*\*\*+ – половая совместимость (дикариотизация и образование пражек).

N-концы белковых последовательностей, т.к. они выполняют роль димеризационных доменов между совместимыми HD1 и HD2 белками. Только HD1/HD2 гетеродимер способен в дальнейшем работать в качестве транскрипционного фактора и регулировать экспрессию генов морфогенеза при развитии фертильного дикариона (Vanham et al., 1995; Kues et al., 2011).

В нашем исследовании участков гомологий на нуклеотидном уровне между последовательностями

ми *hd* генов у гомокариотических (гаплоидных) штаммов трех видов вешенки (*Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* и *P. djamor*) выявлено не было, что свидетельствует о высокой степени вариабельности последовательностей этих генов. Гомологии между последовательностями гомеодоменных белков удалось выявить исключительно на аминокислотном уровне. В результате выравниваний аминокислотных последовательностей HD1 и HD2 белков были обнаружены высоковариабельные доме-

Таблица 2. Мон-мон скрещивания между тестерными штаммами природных изолятов *Pleurotus ostreatus*

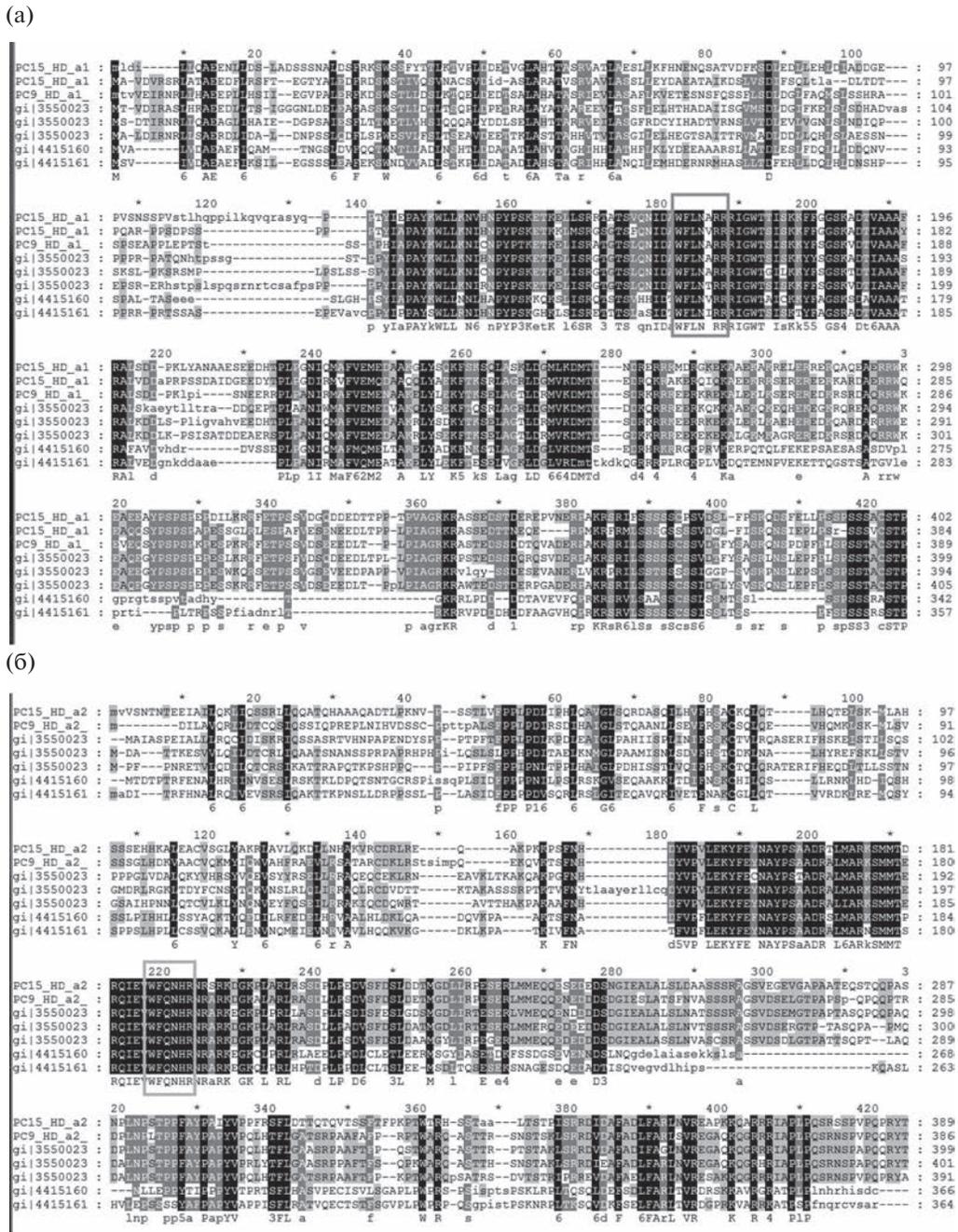
Монокариотические штаммы-тестеры			Штамм М-8				Штамм М-9				Штамм М-13			
			m1	m2	m3	m4	m1	m2	m3	m4	m1	m2	m3	m4
			A3B3	A3B4	A4B3	A4B4	A5B5	A5B6	A6B5	A6B6	A7B3	A7B4	A8B3	A8B4
Штамм М-8	m1	A3B3	–	–	–	+	+	+	+					
	m2	A3B4	–	–	+	–	+	+	+					
	m3	A4B3	–	+	–	–	+	+	+					
	m4	A4B4	+	–	–	–	+	+	+					
Штамм М-9	m1	A5B5	+	+	+	+	–	–	–	+				
	m2	A5B6	+	+	+	+	–	–	+	–				
	m3	A6B5	+	+	+	+	–	+	–	–				
	m4	A6B6	+	+	+	+	+	–	–	–				
Штамм М-13	m1	A7B3	–	+	–	+	+	+	+	+	–	–	–	+
	m2	A7B4	+	–	+	–	+	+	+	+	–	–	+	–
	m3	A8B3	–	+	–	+	+	+	+	+	–	+	–	–
	m4	A8B4	+	–	+	–	+	+	+	+	+	–	–	–

Примечание. \*Половая совместимость (дикариотизация и образование пряжек); \*\*несовместимость. Штаммы М-8 и М-9 гетероаллельны по обоим локусам половой совместимости; у штаммов М-8 и М-13 одинаковые аллели В-локуса.

ны, сконцентрированные на N-конце белковой молекулы, и домены гомологий. При этом два класса транскрипционных факторов HD1 и HD2 отличались не только по аминокислотным последовательностям, но и по длине. Последовательности белков класса HD1 в целом на 40–50 аминокислотных остатков (а.к.) длиннее, чем последовательности белка HD2. Особо варибельные участки у классов HD1 и HD2 белков наблюдали за счет инсерций и делеций. Такие варибельные участки предположительно относятся к петлевым пространственным структурам белка. У обоих классов гомеодоменных последовательностей видов *P. ostreatus*, *P. eryngii* и *P. djamor* присутствовал консервативный мотив WFXN XR: у HD1 белка – в районе 120–190 а.к.; у HD2 белка – в районе 140–195 а.к. (рис. 1). Этот консервативный мотив WFXN XR, как сказано выше, участвует в непосредственном связывании регуляторного гетеродимерного белка HD1/HD2 с молекулой ДНК (DNA binding motif). Интересно также, что у HD1 белков трех видов вешенок помимо мотива WFXN XR был выявлен другой консервативный мотив HNPYPT/S, который отсутствовал у HD2 белков. Таким образом, на основе проведенного анализа *in silico* было показано сходство структуры гомеодоменных белков двух классов (HD1 и HD2) у трех представителей рода *Pleurotus* (*P. ostreatus*, *P. eryngii* и *P. djamor*): наличие консервативных мотивов ДНК-связывающих доменов и высоковарибельных димеризационных доменов на N-конце белковых молекул. Важно заметить, что димеризация гомеодоменных белков HD1–HD2 возможна только между белками от разных половых партнеров, то есть при взаимодействии различных аллелей

лей *matA* локуса в скрещивании. Поэтому неудивительно, что N-концы как сайты димеризации значительно различаются по последовательностям между аллельными вариантами белков от разных половых партнеров. Значительная варибельность N-концевых аминокислотных последовательностей гомеодоменных белков, как полагают, обеспечивает наличие множественных аллелей и вариантов аллельных взаимодействий между гаплоидными партнерами в скрещиваниях (James, 2012).

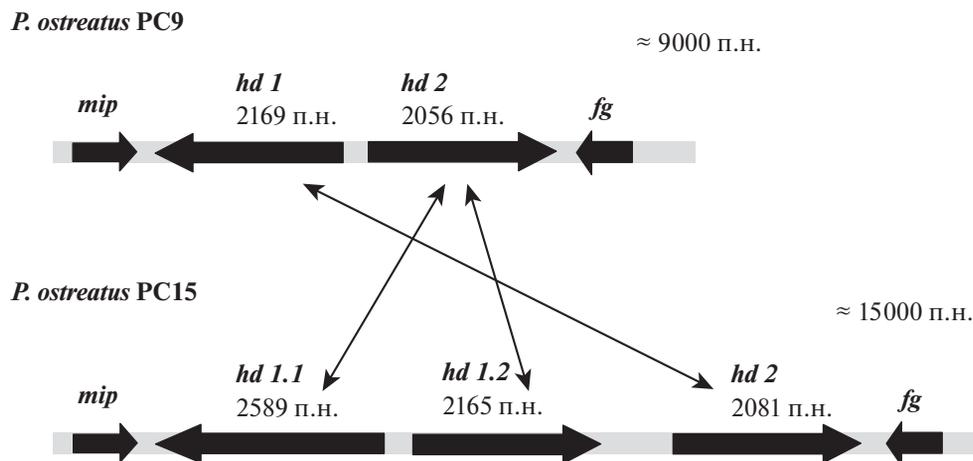
Более детальный анализ структуры *matA* локуса был проведен для двух гомокариотических штаммов *P. ostreatus* – PC9 и PC15. Следует заметить, что штаммы PC9 и PC15 были получены от одного и того же дикариотического родителя – исходного штамма N001 – путем дедикариотизации (разделения дикариона на гомокарионы) в лаборатории Ларрая (Larraza et al., 2001). Несмотря на происхождение от одного и того же исходного родительского дикариотического штамма N001, проведенный нами анализ *in silico* показал чрезвычайно дивергентную структуру *matA* локуса у этих штаммов-гомокарионов: *matA* локус штамма PC9 представлен одной копией гена *hd1* и одной копией гена *hd2*, в то время как *matA* локус штамма PC15 имеет две копии *hd1.1* и *hd1.2* (класс HD1 белков) и одну копию *hd2* (класс HD2 белков) (рис. 2). Иными словами, гомокариотический штамм PC9 характеризуется стандартной (канонической) структурой *matA* локуса, то есть содержит пару генов (*hd1* и *hd2*), кодирующих HD1 и HD2 белки, регуляция транскрипции которых происходит с общей межгенной промоторной области. Подобная структура *matA* локуса была описана для вида *P. djamor*: наличие двух генов *PDa1* и *PDa2*, кодирующих го-



**Рис. 1.** Фрагмент выравнивания аминокислотных последовательностей белков класса HD1 (а) и HD2 (б) для штаммов PC15 *Pleurotus ostreatus*, PC9 *P. ostreatus*, штаммов CCMSSC00488 *P. eryngii*, CCMSSC00489 *P. eryngii* и штаммов RV95/134.104 *P. djamor*, RV95/957.30 *P. djamor*. Программа Dialign 2.2.1.; прямоугольниками выделен консервативный мотив WFXNXXR.

меодоменные транскрипционные факторы HD1 и HD2 соответственно (James et al., 2004). Гомокариотический штамм PC15 отличается наличием дополнительной (второй) копии гена, кодирующего белок HD1 класса, в результате чего в *matA* локусе этого штамма имеется три копии *hd* генов – *hd1.1*, *hd1.2* и *hd2* (рис. 2). Какая из копий генов, кодирующих HD1 класс белков, у штамма PC15 является активной, предсказать, основываясь на данных секвенирования, затруднительно, так как

копии генов (*hd1.1* и *hd1.2*) транскрибируются в противоположных направлениях, хотя и имеют общую промоторную область. Можно предположить, что одна из копий гена *hd1* возникла в результате дупликации или инсерции. Вероятность возникновения инсерций и делеций в пределах *matA* локуса базидиальных грибов была уже описана ранее (Hartmann et al., 2021). В целом, высокая вариабельность нуклеотидных последовательностей *hd* генов, которая, как полагают, связана с



**Рис. 2.** Структура *matA* локуса половой совместимости и схема аллельных взаимодействий гомеодоменных белков *Pleurotus ostreatus*. Ген *mip* кодирует пептидазу (mitochondrial intermediate peptidase); ген *fg* (beta-flanking protein) кодирует белок с неизвестной функцией; гены *hd* кодируют соответствующие гомеодоменные белки.

механизмом накопления точковых мутаций, является инструментом достижения большего аллельного разнообразия локусов, а мультиаллельность в итоге направлена на снижение вероятности инбридинга в природных популяциях базидиальных грибов. Как и у других базидиальных грибов, высоковариабельный *matA* локус у изученных штаммов PC9 и PC15 *P. ostreatus* фланкирован более консервативными последовательностями, кодирующими ген *mip* (mitochondrial intermediate peptidase) и ген *fg* с неизвестной функцией (beta-flanking protein) (рис. 2).

#### Анализ аминокислотных последовательностей HD1 и HD2 белков *Pleurotus ostreatus*

При анализе аминокислотных последовательностей HD1 и HD2 белков *P. ostreatus* на основе проведения процедуры множественных выравниваний последовательностей гомеодоменных белков была оценена вероятностная локализация исследуемых белков класса HD1 в клетке: для белка HD1.1 (штамм PC15) – 73.9% ядерная локализация, 17.4% цитоскелетная, 4.3% везикулы секреторной системы, 4.3% мембранная; для белка HD1.2 (штамм PC15) – 52.2% ядерная, 26.1% цитоплазматическая, 17.4% цитоскелетная, 4.3% везикулы секреторной системы; для белка HD1 (штамм PC9) – 73.9% ядерная, 17.4% цитоплазматическая, 8.7% цитоскелетная локализация. Для белков класса HD2 были предсказаны следующие вероятностные места локализации в клетке: для белка HD2 (штамм PC15) – 65.2% ядерная локализация, 26.1% цитоплазматическая, 8.7% цитоскелетная; для белка HD2 (штамм PC9) – 82.6% ядерная, 8.7% цитоскелетная, 4.3% цитоплазматическая, 4.3% везикулы секреторной системы. Таким образом, для исследуемых гомеодоменных белков обоих классов (HD1 и HD2) была показана вероятностная ядерная локализация. Следует за-

метить, что поиск сигнальных последовательностей ядерной локализации программа проводила по участкам, обогащенным аргинином (R) и лизином (K), или пролином (P) и гистидином (H), которые являются маркерами ядерных сигнальных последовательностей. Еще одна особенность касается того, что у представителей класса HD2 белков обнаружены характерные мотивы ДНК-связывающего гомеобокс-домена (homeobox): MARKSMMTDRQIEVWFQNHNRNSR для HD2 белка штамма PC15 (начиная с 179 а.к.); MARKSMMTERQIEVWFQNHNRNRAR для HD2 белка штамма PC9 (с 177 а.к.) (графические данные в статье не представлены). Однако, в пределах последовательностей HD1 белков мотивы гомеобокс-домена не обнаружены; поэтому можно предположить, что у HD2 класса белков ДНК-связывающий домен более консервативен. Основываясь на оценке гидрофильности/гидрофобности аминокислот HD белков в программе Kyte Doolittle Hydrophathy Plot, было показано, что у гомеодоменных белков HD1 и HD2 класса отсутствуют трансмембранные гидрофобные участки, и, следовательно, белки имеют глобулярную структуру, что характерно для транскрипционных факторов (подробные данные в статье не представлены). Глобулярная структура белков и отсутствие сигнальных последовательностей трансмембранной локализации была также подтверждена в программе SignalP 4.1. Характерный ДНК-связывающий домен WFXNXR у белков HD1 класса находится в положении 125–175 а.к., а у белков HD2 класса – в положении 145–200 а.к.; эти области позиционно гомологичны соответствующим последовательностям гомеодоменных белков модельного гриба *Coprinus cinerea* (Shnyreva, 2015). Следует заметить, что в целом белки класса HD2 гриба *Pleurotus ostreatus* обладали более консервативной структурой ДНК-связывающего гомеодомена.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В работе продемонстрирована чрезвычайно дивергентная структура *matA* локуса половой совместимости у двух совместимых по полу гомокариотических штаммов (PC9 и PC15) вида *P. ostreatus*: *matA* локус штамма PC9 представлен одной копией гена *hd1* и одной копией гена *hd2*, в то время как *matA* локус штамма PC15 имеет две копии *hd1.1* и *hd1.2* и одну копию гена *hd2*. Анализ *in silico* аминокислотных последовательностей гомеодоменных белков HD1 и HD2 показал, что все исследуемые HD белки обладают глобулярной структурой и характеризуются ядерной локализацией. У всех HD последовательностей был обнаружен варибельный N-конец и более консервативный ДНК-связывающий домен с характерным консервативным мотивом WFXNXR в третьей  $\alpha$ -спирали. Как было показано ранее (Raudaskoski, Kothe, 2010; Kues et al., 2011), N-концевые последовательности в структуре гомеодоменных белков HD1 и HD2 выполняют роль димеризационных доменов между совместимыми HD1 и HD2 белками-партнерами; и благодаря такой функции, N-конец отличается высокой степенью варибельности аминокислотных последовательностей между разными аллелями локуса половой совместимости. Активный гетеродимер HD1/HD2 может сформироваться исключительно между белками-партнерами HD1 и HD2, которые транскрибируются с разных аллелей *matA* локуса в дикарионе, сформированном между совместимыми по полу гомокариотическими штаммами. Наши результаты анализа структурной организации локуса *matA* и кодируемых локусом гомеодоменных белков *P. ostreatus* подтверждают мнение о том, что HD белки выполняют функцию факторов транскрипции и, следовательно, имеют ядерную локализацию и ДНК-связывающие мотивы. Результаты исследования свидетельствуют о высокой структурной варибельности последовательностей гомеодоменных белков; при этом мультиаллельность *matA* локуса достигается как за счет различной копийности кодирующих генов в пределах локуса, так и за счет варибельности кодирующих генов последовательностей. Еще одна интересная особенность заключается в том, что белки HD1 и HD2 тетраполярных базидиомицетов гомологичны гомеодоменным белкам Mat $\alpha$ 2 и Mat $\alpha$ 1, которые являются основными регуляторными единицами однолокусной (биполярной) системы полового размножения у аскомицетных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Kues et al., 2011; Hartmann et al., 2021). Поэтому исследование возможных механизмов генетической детерминации пола у грибов является актуальным и поможет разобраться в сложных вопросах эволюции систем полового размножения. Во многом все еще нерешенными остаются вопросы перехода от функционального гетероталлизма к гомоталлизму у грибов, от би-

полярной системы половой совместимости к тетраполярной и обратный переход, а также наблюдаемый в некоторых группах грибов возврат к псевдогомоталлизму, который часто обусловлен паразитическим существованием. Однако следует надеяться, что дальнейшее накопление данных по секвенированию геномов грибов, несомненно, прольет свет на эволюцию систем генетической детерминации пола и понимание ключевых механизмов достижения биологического разнообразия, включая аллельное разнообразие.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15-54-05065 и РФФ № 14-50-00029.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Anderson N.A., Furneir G.R., Wang A.S. et al. The number and distribution of incompatibility factors in natural populations of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sapidus*. Can. J. Bot. 1991. V. 69. P. 2187–2191.
- Arnold K., Bordoli L., Kopp J. et al. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modeling. Bioinformatics. 2006. V. 22. P. 195–201.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti770>
- Banham A.H., Asante-Owusu R.N., Gottgens B. et al. A N-terminal dimerization domain permits homeodomain proteins to choose compatible partners and initiate sexual development in the mushroom *Coprinus cinereus*. Plant Cell. 1995. V. 7 (6). P. 773–783.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.7.6.773>
- Cassleton L.A., Kues U. The origin of multiple mating types in model mushrooms *Coprinopsis cinerea* and *Schizophyllum commune*. Sex in Fungi. USA: ASM, 2007. P. 142–147.
- Hartmann F.E., Duhamel M., Carpentier F. et al. Recombination suppression and evolutionary strata around mating-type loci in fungi: documenting patterns and understanding evolutionary and mechanistic causes. New Phytol. 2021. V. 229. P. 2470–2491.  
<https://doi.org/10.1111/nph.17039>
- James T.Y. Ancient yet fast: rapid evolution of mating genes and mating systems in fungi. In: Rapidly evolving genes and genetic systems. University Press, Oxford, 2012. P. 187–200.
- James T.Y., Liou S.R., Vilgalys R. The genetic structure and diversity of the *A* and *B* mating-type genes from the tropical oyster mushroom, *Pleurotus djamor*. Fungal Genet. Biol. 2004. V. 41. P. 813–825.  
<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.04.005>
- James T.Y., Sun S., Kuo H. et al. *Polyporales* genomes reveal the genetic architecture underlying tetrapolar and bipolar mating systems. Mycologia. 2013. V. 105 (6). P. 1374–1390.  
<https://doi.org/10.3852/13-162>
- Kües U., James T.Y., Heitman J. Mating type in *Basidiomycetes*: unipolar, bipolar and tetrapolar patterns of sexuality. In: The Mycota XIV. Springer, 2011. P. 97–160.
- Kyte J., Doolittle R. A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. J. Mol. Biol. 1982. V. 157. P. 105–132.  
[https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90515-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90515-0)
- Larraya L., Peñas M.M., Pérez G. et al. Identification of incompatibility alleles and characterization of molecular markers genetically linked to the *A* incompatibility locus in the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. Curr. Genet.

1999. V. 34. P. 486–493.  
<https://doi.org/10.1007/s002940050424>
- Larraya L.M., Pérez G., Iribarren I. et al. Relationship between monokaryotic growth rate and mating type in the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67 (8). P. 3385–3390.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3385-3390.2001>
- Morgenstern B. DIALIGN: multiple DNA and protein sequence alignment at BiBiServ. Nucleic Acids Res. 2004. V. 32. P. W33–W36.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkh373>
- Petersen T.N., Brunak S., Heijne G. et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. Nature Methods. 2011. V. 8. P. 785–786.  
<https://doi.org/10.1038/nmeth.1701>
- Raudaskoski M. Mating-type genes and hyphal fusions in filamentous basidiomycetes. Fungal Biology Reviews. 2015. V. 29 (3–4). P. 179–193.  
<https://doi.org/10.1016/j.fbr.2015.04.001>
- Raudaskoski M., Kothe E. Basidiomycete mating type genes and pheromone signaling. Eukaryot. Cell. 2010. V. 9. P. 847–859.  
<https://doi.org/10.1128/EC.00319-09>
- Shnyreva A.A. Fungi of the genus *Pleurotus*: gene typing and analysis of the loci of mating compatibility. Diss. ... Dr. Sci. Moscow, 2015 (in Russ.).
- Shnyreva A.V., Druzhinina I.S., Dyakov Yu.T. Genetic structure of the *Pleurotus ostreatus* sensu lato complex in Moscow Region. Rus. J. Genetics. 1998. V. 34 (12). P. 1371–1378.
- Shnyreva A.V., Shtaer O.V. Differentiation of closely related oyster fungi *Pleurotus pulmonarius* and *P. ostreatus* by mating and molecular markers. Rus. J. Genetics. 2006. V. 42 (5). P. 539–545.  
<https://doi.org/10.1134/S1022795406050115>
- Shnyreva A.A., Sivolapova A.B., Shnyreva A.V. The commercially cultivated edible oyster mushrooms *Pleurotus sajor-caju* and *P. pulmonarius* are two separate species, similar in morphology but reproductively isolated. Rus. J. Genetics. 2012. V. 48 (11). P. 1080–1088.  
<https://doi.org/10.1134/S1022795412110105>
- Sivolapova A., Shnyreva A.V., Sonnenberg A. et al. DNA marking of some quantitative trait loci in the cultivated edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. Rus. J. Genetics. 2012. V. 48 (4). P. 383–389.  
<https://doi.org/10.1134/S1022795412040114>
- Wang G., Wang Y., Chen L. et al. Genetic structure and evolutionary diversity of mating-type (MAT) loci in *Hypsizygus marmoreus*. IMA Fungus. 2021. V. 12. P. 35–51.  
<https://doi.org/10.1186/s43008-021-00086-8>
- Wang W., Lian L., Xu P. et al. Advances in understanding mating type gene organization in the mushroom forming fungus *Flammulina velutipes*. G3-Gene. Genom. Genet. 2016. V. 6. P. 3635–3645.  
<https://doi.org/10.1534/g3.116.034637>
- Zervakis G., Balis C. A pluralistic approach in the study of *Pleurotus* species with emphasis on compatibility and physiology of the European morphotaxa. Mycol. Res. 1996. V. 100 (6). P. 717–731.
- Шнырева А.А. (Shnyreva) Грибы рода *Pleurotus*: генотипирование и анализ локусов половой совместимости. Дисс. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2015. 129 с.

## Structure Analysis of the *MatA* Locus of Sexual Compatibility in the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus*

A. V. Shnyreva<sup>a, #</sup> and A. A. Shnyreva<sup>a, ##</sup>

<sup>a</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

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

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

The edible oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* is one of the most cultivated species worldwide. Morphogenesis associated with the fruit bodies maturation is controlled by two unlinked loci of sexual compatibility *matA* and *matB* with multiple alleles (tetrapolar system of sexual compatibility). Quantitative analysis of the alleles of mating compatibility loci in 17 natural isolates collected in the Moscow region was performed in mon-mon (monokaryon – monokaryon) and di-mon (dikaryon – monokaryon) crossings. Four monokaryotic testers strains which were heteroallelic at both mating type loci were obtained for each of the five natural mushroom isolates by using original technique of sterile spore prints on Petri dishes and mon-mon crossing. Twelve natural isolates were crossed via di-mon mating with the four monokaryotic testers M-38. Genetic analysis of the alleles of sexual compatibility loci in 17 natural isolates revealed multiple alleles at both loci: at least 10 alleles at *matA* locus and eight alleles at *matB* locus. Structural organization analysis of the *matA* locus was performed *in silico* for homokaryotic strains PC9 and PC15 based on the genome sequencing data available at DOE Joint Genome Institute. The *matA* locus is proved to be of extremely divergent structure: there are one copy of the homeodomain gene *hd1* and one copy of the *hd2* gene in the PC9 strain, whereas the *matA* locus of the PC15 strain is composed by two copies of *hd1.1* and *hd1.2* genes (class HD1 homeodomain proteins) and one copy of *hd2* gene (class HD2 proteins). Comprehensive analysis of amino acid sequences of HD1 and HD2 homeodomain proteins demonstrated that the proteins have a globular structure with the nuclear localization and contain a variable N-terminus and the more conservative DNA-binding domain with a specific conservative motif WFXNXR in the third  $\alpha$ -helix. The results approve the opinion that multiple alleles of the *matA* locus of sexual compatibility in basidiomycete fungi is achieved by different copies' number of the coding *hd* genes within the locus, as well as by the variability of the coding gene sequences.

**Keywords:** basidiomycetes, homeodomain transcription factors, mating type loci, sexual compatibility

УДК 581.1 : 633.51

## PHYTOCHROME-DEPENDENT REGULATION OF MELON RESISTANCE TO FUSARIUM WILT

© 2023. I. G. Akhmedzhanov<sup>1,\*</sup>, M. M. Khotamov<sup>2,\*\*</sup>, F. K. Ganiev<sup>3,\*\*\*</sup>, and E. E. Lyan<sup>3,\*\*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan, 100047 Tashkent, Uzbekistan*

<sup>2</sup>*Institute of Genetics and Plant Experimental Biology of the Uzbek Academy of Sciences, 111208 Kibray, Uzbekistan*

<sup>3</sup>*Scientific Research Institute of Vegetable, Melon and Potato growing, Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan, 111106 Tashkent, Uzbekistan*

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

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

\*\*\**e-mail: sabpkiti@qsv.uz*

Received August 15, 2022; revised December 11, 2022; accepted December 23, 2022

The effect of pre-sowing seed treatment with light in the red spectral region on the resistance of melon plants (*Cucumis melo*) of the cultivar Kichkintoy to Fusarium wilt damage caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* was investigated. The directly-opposite effects of red and far red light on the degree of plant damage by the pathogen, which was determined by the special symptoms of the disease on the leaves and stems of plants, were revealed. When alternating seed treatment with red and far red light, the final effect was determined by the type of irradiation that acted last. The results of photobiological testing made it possible to establish the participation of the phytochrome system in the control of the resistance of melon plants of the cv. Kichkintoy to Fusarium wilt. It is shown that there is a high positive correlation between the parameters of chlorophyll fluorescence induction of leaves reflecting the functional activity of the photosynthetic apparatus and the degree of damage to plants grown from non-irradiated seeds and seeds irradiated with red light. The results of the conducted studies establish the possibility of effective regulation of the resistance of the melon cv. Kichkintoy to the defeat of *F. oxysporum* f. sp. *melonis* through photoactivation of the phytochrome system of seeds before sowing.

**Keywords:** chlorophyll fluorescence, *Cucumis melo*, far red light, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, pathogen, photosynthesis, resistance to red light

**DOI:** 10.31857/S0026364823020034, **EDN:** NIBVWI

### INTRODUCTION

Among the various diseases of vegetable and melon crops, a special place is occupied by Fusarium wilt, which is caused by fungi of the *Fusarium* genus living in the soil, on plant debris and seeds (Petkar, Ping, 2017). Among these crops, melons (*Cucumis melo* L.) are most susceptible to Fusarium wilt (Pan et al., 1996; Trionfetti-Nisini et al., 2002; Egel, Martyn, 2007; Alvarez, 2009; Matsumoto et al., 2011, Registeri et al., 2012), while the most significant damage to this crop *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* inflicts on loamy and clayey soils (Zuniga et al., 1997; Namiki et al., 1998; Kurt et al., 2002; Elena, Pappas, 2006; Matsumoto, 2012), typical for Uzbekistan. Such soils are easily colonized by the pathogen due to the presence in them of the remains of the stems and roots of agricultural plants grown in crop rotation, and favorably influencing the increase of these resistant pathogenic populations (Banihashemi, Dezeeuw, 1975; Gordon et al., 1989; Zuniga et al., 1997; Martyn, 2014). This fungal disease manifests itself at different stages of plant vegetation, especially during active growth, the appearance of the

first leaves and fruit formation, which leads to wilting of the leaves and, in most cases, to the death of plants. Ultimately, this leads to extremely high yield losses and a decrease in its quality.

With modern technologies of melon cultivation, as well as many agricultural crops, it is necessary to carry out certain preventive measures aimed at increasing the resistance of plants to Fusarium wilt. At the same time, various methods of seed etching and spraying crops with pesticides are used (Jahanshir, Dzhaliylov, 2010). However, these methods of control are not environmentally safe, therefore, the development of less toxic plant protective is required (Maksimov et al., 2015). In addition, as noted in the work by Novikova (2005), plant protection through the use of chemicals and mineral fertilizers leads to the formation of resistant races of pathogens, depletion of the quantitative and qualitative composition of natural microbiocenoses and accumulation of toxic residues in the environment. In this regard, an alternative to chemical methods of plant protection, is the use of biological products based on live cultures of microorganisms to regulate the population density of phytopathogenic microorganisms and

phytosanitary optimization of agroecosystems (Novikova, 2005; Egel, Martyn, 2007; Baysal, Calskan, 2008; Matsumoto, 2012; Registeri et al., 2012; Okungbowa, Shittu, 2012; Maksimov et al., 2015; Alekseeva, Smetanina, 2019; Miller et al., 2020; Rao et al., 2021). Despite the significant progress made in this direction, it is necessary to take into account the complexity of these methods and their relatively high cost.

At the same time, the regulatory role of biologically active red light in the processes of plant morphogenesis of various agricultural crops is known (Butler et al., 1959; Volotovskiy, 1992; Casal, Sanchez, 1998; Legris et al., 2019). The stimulating effect of red light is based on the photoinduced transition of phytochrome from inactive  $P_r$  to active  $R_{fr}$  form (Rockwell et al., 2006; Szurmant et al., 2007; Kreslavski et al., 2009; Chen, Chory, 2011; Sineshchekov, 2013; Galvao, Fankhauser, 2015). It is the direct ( $P_r - R_{fr}$ ) and reverse ( $R_{fr} - P_r$ ) photoconversion of the photopigment that allow the plant to respond to the quality, intensity, and duration of illumination by changing the growth and shaping processes, which are commonly called photomorphogenesis (Quail, 2007; Pham et al., 2018; Wu et al., 2019). The role of the photoreceptor in the control of plant resistance to adverse environmental factors (Kuznetsov et al., 1986; Mathews et al., 2006; Kreslavsky, 2010), including pathogenic microorganisms (Horemans et al., 1984; Akhmedzhanov et al., 1992, 2014; Mavlonova, 2011), has been shown. Irradiation of seeds with a helium-neon laser, along with a stimulating effect, already at an early stage of ontogenesis induces an increase in the general nonspecific resistance of cucumber plants to root rot and sunflower to *Fusarium* wilt (Koreneva, 1996). In these studies on the seeds of a number of agricultural crops, the role of phytochrome as the main regulator of most physiological processes in plants has been studied. Similar data on the regulatory role of phytochrome in the control of morpho-physiological processes in melon, including resistance to biotic environmental factors, are not available in the literature. In this regard, the purpose of this study was to determine the effect of seed irradiation with light in the red region of the spectrum on the resistance of melon plants to the causative agent of *Fusarium* wilt. Establishing patterns in plant responses to seed irradiation with red ( $\lambda_{max}$  660 nm) and far red ( $\lambda_{max}$  730 nm) light will reveal the presence or absence of phytochrome control of the disease resistance of this crop, and will also create prerequisites for the development of an environmentally friendly, highly effective method for increasing melon resistance to *Fusarium* wilt injury.

## MATERIALS AND METHODS

Melon seeds of the cv. Kichkintoy were sown in sterilized garden soil in plastic trays, where they germinated at a temperature of 26–30°C. The seedlings were

grown to the stage of plants with a fully developed first true leaf (Egel, Martyn, 2007).

Inoculation was performed using the root immersion method (Matsumoto et al., 2011). A culture of the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* from the collection of the laboratory of mycology and algology of the Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan was cultivated in 100 ml of potato dextrose broth (PDB) in 300 ml flasks on a rotating shaker (about 120 rpm) for one week at 25°C. After cultivation, the conidia suspension was filtered through a two-layer gauze. The concentration of conidia was determined using a Goryaev chamber, and then adjusted to the appropriate density by dilution with sterile distilled water. For artificial inoculation, seedlings were extracted from sterilized soil, the roots were washed in tap water, and then immersed in a conidial suspension (107 spores/ml) for 15 s. Inoculated seedlings were transferred to sterilized garden soil in new plastic pots and grown in a growing chamber at a temperature of 23°C (photoperiod of 16 h).

The resistance of melon plants to the pathogen was evaluated 21 days after inoculation according to the 0–3 severity scale of the disease (0 means no symptoms, 1 – small leaf lesions, 2 – severely affected leaves, 3 – plant death) according to Matsumoto et al. (2012). Resistance was assessed on 20 plants in each variant. The results were expressed as averages and standard errors.

Irradiation of seeds with red light (RL) was carried out with an illuminator made on the basis of red LEDs (radiation maximum is 660 nm, 1000 Lux). Far red light (FRL) was obtained using a KS-19 light filter installed between the sample and the light source.

Determination of the functional activity of the photosynthetic apparatus of assimilating tissues of melon was carried out by the method of chlorophyll fluorescence induction (ICF). The ICF of leaves of control (uninfected) and infected plants was measured on days 5, 10, 15, and 20 after infection with the causative agent of *Fusarium* wilt using a portable fluorimeter (Akhmedzhanov et al., 2013): light source is LED, 450–470 nm, receiver is P-I-N photodiode; recording time of fluorescence kinetics up to 10 min with a resolution of 0.01 s. In this case, the following ratio of parameters of the induction curve of leaf fluorescence was used:  $(F_m - F_t)/F_t$ . The degree of reduction in the intensity of chlorophyll fluorescence, characterizing the integral activity of the photosynthetic apparatus, where  $F_m$  is the maximum value of fluorescence induction,  $F_t$  is the stationary value of fluorescence after light adaptation of the plant leaf (Lichtenthaler, 1992; Korneev, 2002; Posudin et al., 2010; Romanov et al., 2010). The fluorescence spectra of the leaves were measured on a LIDAR setup (Agishev et al., 2002), the main element base of which is a helium-neon laser emitter, the exciting light wavelength is 632 nm, the radiation power is 100 mW, and the light beam diameter is 1 cm – telescope of the Newton system with a working mirror diameter of 110 mm. Spectral selection of



**Fig. 1.** The degree of damage to melon plants of the cv. Kichkintoy by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in accordance with the severity scale of the disease 0–3 (0 means no symptoms, 1 – small damage on the leaves, 2 – severely affected leaves, 3 – death of the plant).

the signal was carried out using the diffraction grating of the MUM monochromator. The laser operation mode, the scanning of the monochromator over the spectrum, and the output of the results to the display are programmatically set. The intensity ratio  $I_{690}/I_{730}$  of the LICF spectra were used as parameters characterizing changes in the fluorescence spectra. LICF measurements were carried out on the 3–4 leaves of the middle tier in 6–10 plants. The results were processed by methods of mathematical statistics according to Dospikhov (1985).

## RESULTS

A characteristic feature of the phytochrome system is the direct opposite effect of RL and FRL on photopigment activity: during direct photoconversion, RL leads to the formation of the active  $P_{fr}$  form of phytochrome, while FRL, on the contrary, returns it to the inactive  $P_r$  form as a result of reverse photoconversion (Volotovskiy, 1992; Rockwell et al., 2006; Sineshchekov 2013; Wu et al., 2019). In accordance with this, in order to establish the existence of phytochrome control of physiological processes in plants, the method of photobiological testing is used, which consists in fixing the responses of plants to irradiation of RL and FRL, as well as their alternating action. With a combination ef-

fect, the latter type of exposure determines the nature of the physiological response (Butler et al., 1959; Kuznetsov et al., 1986; Volotovskiy, 1992).

Infection of melon with *Fusarium* most often manifests itself after the formation of the first true leaves, which leads to the appearance of special signs of wilt disease of plant leaves. The leaves of sick melons lose turgor, lighten, become covered with gray spots and fade quickly. Fig. 1 shows the distribution of leaves into 4 groups in accordance with the degree of damage to melon plants of the cv. Kichkintoy by phytopathogen.

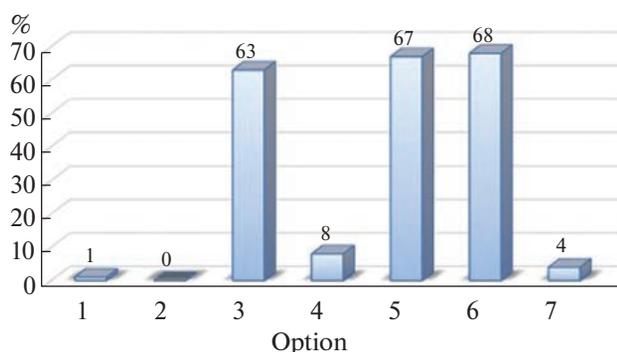
The results of studies of the effect of pre-sowing treatment of seeds with light in the red region of the spectrum (RL, FRL, RL + FRL, FRL + RL) on melon resistance to *Fusarium* wilt, which was evaluated by the method of Matsumoto et al. (2012) according to the characteristic symptoms of the disease at 21 days post inoculation (dpi) are presented in the Table 1.

The data obtained showed a relatively low degree of resistance of melon plants to pathogen infection (var. No. 3), which is expressed in a high percentage of plants with symptoms of wilt damage: with minor leaf damage (group 1–17% of plants), with severely affected leaves (group 2–19% of plants) and death of plants (group 3–11% of plants). Irradiation of seeds with RL before sowing (var. no 4) has an almost complete protective effect against infection, while the percentage of

**Table 1.** The effect of artificial infection with the *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* on the distribution (in %) of melon plants of the cv. Kichkintoy in accordance with the severity scale of the disease as a result of various options for pre-sowing seed treatment with light in the red region of the spectrum

Option no	Option	Scale of severity of the disease			
		0	1	2	3
1	Control	99	1	–	–
2	RL	100	–	–	–
3	Infection	53	17	19	11
4	RL + Infection	94	5	1	–
5	FRL + Infection	45	18	21	16
6	RL + FRL + Infection	47	13	32	8
7	FRL + RL + Infection	98	1	1	–

Note. 1–7 – experience options: 1 – control (uninfected plants); 2 – seeds treated with RL, plants not infected; 3 – infected plants; 4 – seeds treated with RL, plants infected; 5 – seeds treated with FRL, plants infected; 6 – seeds treated with RL + FRL, plants infected; 7 – seeds treated with FRL + RL, plants infected.



**Fig. 2.** The effect of pre-sowing treatment of seeds with red, far red light or their combined effect on the number of infected with the causative agent of Fusarium wilt melon plants of the cv. Kichkintoy with a characteristic change in the color of the vascular system, in % of their total number. 1–7 – experience options: 1 – control (uninfected plants); 2 – seeds treated with RL, plants not infected; 3 – seeds not treated with RL, plants infected; 4 – seeds treated with RL, plants infected; 5 – seeds treated with FRL, plants infected; 6 – seeds treated with RL + FRL, plants infected; 7 – seeds treated with FRL + RL, plants infected.

plants belonging to group 1 decreases by more than 3 times, and group 2 accounts for only 1 percent of all plants used in the experiment.

A completely different picture is observed in variant no 5 with pre-sowing treatment of seeds with FRL, where a significant, compared with the control variant, drop in the percentage of plants in group 0 and their increase in the 3-lethal group is recorded. This indicates a directly opposite effect of RL and FRL on the wilt resistance of melon plants. This is supported by the data on the distribution of plants by disease severity groups in variant no 6 with seed treatment with FRL after RL irradiation, which is very close to the variants with infection of plants without seed irradiation (no 3) and with their pre-treatment with FRL (no 5). In addition, photostimulation of seeds by RL cancels the inhibitory effect of FRL (var. no 7), which leads to almost complete resistance of plants to infection. The obtained data testify to the stimulating effect of RL on melon wilt resistance. On the contrary, FRL lowers the effectiveness of the defense system, compared to plants obtained from seeds untreated with light. Thus, the directly-opposite effects of pre-treatment of seeds with RL and FRL and the cancellation of the effects of one type of irradiation by another indicates the participation of phytochrome in the regulation of melon resistance to Fusarium wilt.

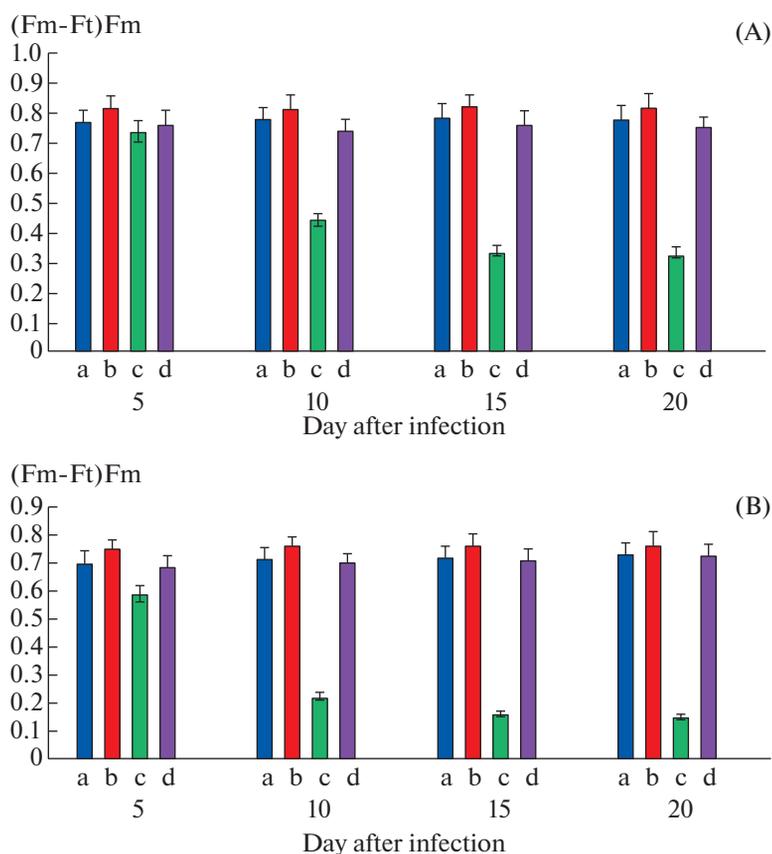
Another diagnostic symptom of Fusarium wilt in plants of the *Cucurbitaceae* family is a discoloration of the vascular system, which can be easily observed on a longitudinal or transverse section of roots or stems (Egel, Martyn, 2007). In this regard, the presence of a change in the color of the xylem at 21 dpi was investigated, depending on the pre-sowing treatment of seeds

with RL, FRL, or their combined effect. The results of these experiments are presented in Fig. 2.

The data obtained showed that infection of plants (var. no 3) leads to a change in the color of the xylem, which acquires a brown-withered hue in 63% of plants. Photo stimulation of seeds by RL before sowing has a protective effect against infection, which is expressed in a sharp 8-fold decrease in the number of plants with a changed color of the vascular system. On the contrary, FRL, both by itself (var. no 5) and after RL (var. no 6), has an inhibitory effect on the protective reactions of infected plants against wilt, the number of which with signs of damage increases markedly. Whereas the treatment of seeds with RL after FRL (var. no 7) cancels its inhibitory effect on the ability of infected plants to resist infection. At the same time, the minimum number of plants is fixed, on the sections of which a brown-brown color of the xylem is detected. Thus, the presented data indicate directly opposite effects of RL and FRL on the ability of melon plants to resist the causative agent of Fusarium wilt. Cancellation of the action of red light by far red and, conversely, far red by red light, allows us to state that the melon system protective against *Fusarium* infection is controlled by the phytochrome system. At the same time, these data indicate the possibility of regulation of melon resistance to the pathogen by pre-sowing stimulation of seeds with RL.

To confirm this assumption, we studied the effect of pre-sowing seed treatment with RL on the functional state of the photosynthetic apparatus (PSA) of melon plants under the influence of Fusarium wilt. The expediency of these studies is determined by the fact that the activity of PSA is a reliable indicator of the physiological state of plants, both under normal growing conditions and under the influence of adverse environmental factors (Voronkov et al., 1976; Pikulenko, Bulychev, 2007; Kreslavsky, 2010; Akinshina et al., 2016). An effective way to study the activity of the photosynthetic apparatus of plants is the method of induction of chlorophyll fluorescence (ICF) (Kshirsagar et al., 2001; Mandal et al., 2009; Ptushenko et al., 2014; Babar et al., 2018), since chlorophyll, located in photosynthetic membranes, serves as a kind of natural sensor of the state of algal and higher plant cells under changing environmental conditions (Veselovsky, Veselova, 1990; Korneev, 2002). Fig. 3 shows the results of a comparative assessment of the effect of photostimulation of seeds with RL on the parameters of the kinetic curves of ICF of the leaves of melon plants infected with the causative agent of Fusarium wilt. To evaluate and compare kinetic curves, we used the value  $(F_m - F_t)/F_m$ , where  $F_m$  is the amplitude of the ICF maximum,  $F_t$  is the amplitude of the stationary level.

An analysis of the induction curves showed that the value of the ratio  $(F_m - F_t)/F_m$  for the kinetics at a wavelength of 690 nm sharply decreases by the 10th day after infection and, starting from the 15th day after infection, becomes more than 2 times lower compared to



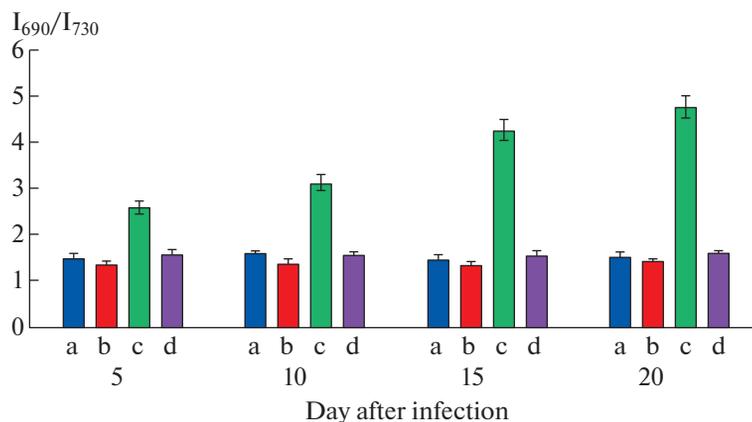
**Fig. 3.** Change in the characteristics of the induction curves of chlorophyll fluorescence ( $F_m - F_t$ )/ $F_m$  depending on the period of infection of melon plants of the cv. Kichkintoy by the causative agent of Fusarium wilt. A – at a wavelength of 690 nm, B – at a wavelength of 730 nm: a – control (plants were not infected); b – seeds were irradiated with RL before sowing; c – seeds were not irradiated with RL before sowing, plants were infected with a pathogen; d – seeds were irradiated with RL before sowing, plants were infected with a pathogen. The confidence interval of the mean values was at least 95% ( $P \leq 0.05$ ).

the control (Fig. 3, a). The same ratio for the kinetics at a wavelength of 730 nm already at the first stages of plant damage decreases by 20%, and on days 10, 15 and 20, the decrease in the value of the parameter ( $F_m - F_t$ )/ $F_m$  reaches 69, 77 and 80%, respectively (Fig. 3, b). The photoconversion of phytochrome into the active Pfr form in seeds as a result of their pre-sowing treatment with RL has a protective effect against the negative influence of infection on the PSA activity of plants affected by wilt. So, in this case, the decrease in the ratio of the measured parameter of the FSA does not exceed 5 percent for both the IFC kinetics at 730 nm and the kinetics at 690 nm.

The revealed changes in the parameters of the kinetic curves of the ICF of the leaves of plants affected by the pathogen may be associated with a violation of the interaction of two pigment photosystems (PSI and PSII) and energy migration between them. Violations of this kind should be reflected in the characteristics of the ICF spectra of the leaves of healthy and diseased plants. In this regard, to confirm the above results, indicating the protective effect of RL on the photosynthetic activity of leaves, we studied the spectral charac-

teristics of the ICF of infected plants grown from photostimulated and non-irradiated seeds.

Changes in the fluorescence spectra were controlled with respect to the intensity ratio  $I_{690}/I_{730}$ . The results averaged for each group of plants (Fig. 4) show that during the entire period of measurement of fluorescence spectra (from 5 to 20 days after infection), the value of the ratio  $I_{690}/I_{730}$  for control (uninfected) plants remained approximately at the same level, varies slightly within the measurement error. At the same time, already at the 5 dpi of melon seedlings, the ratio  $I_{690}/I_{730}$  increases by 42%, at the 10 dpi this trend will continue and at the 15–20 dpi the increase in the value of the measured ICF parameter reaches a 3-fold value relative to the control. Pre-sowing treatment of seeds with RL almost completely prevents the negative impact of the infection on the value of parameter  $I_{690}/I_{730}$  throughout the entire period of measurement of ICF spectra. At the same time, the greatest difference in the value of the measured fluorescence spectra of the leaves of control (uninfected) and pathogen-infected plants grown from seeds photostimulated by RL does not exceed 4–5%.



**Fig. 4.** Changes in the spectral characteristics of laser-induced chlorophyll fluorescence ( $I_{690}/I_{730}$ ) depending on the period of infection of melon plants of the cv. Kichkintoy by the causative agent of Fusarium wilt: a – control (plants were not infected); b – seeds were irradiated with RL before sowing; c – seeds were not irradiated with RL before sowing, plants were infected with a pathogen; d – seeds were irradiated with RL before sowing, plants were infected with a pathogen. The confidence interval of the mean values was at least 95% ( $P \leq 0.05$ ).

An increase in the fluorescence intensity at 690 nm can be associated with damage to the electron transport chain (ETC) between PS I and PS II by the fungal metabolites embedded in membranes, which leads to the waste of the energy of excited molecules for luminescence. Thus, the retention of the  $I_{690}/I_{730}$  ratio in the fluorescence spectra of the leaves of infected plants as a result of RL irradiation of seed indicates its protective effect, which prevents the disruption of ETC PSA activity due to the negative influence of phytopathogen metabolites.

Comparison of the experimental data on the effect of RL on the degree of infection of melon, which was controlled by the characteristic symptoms of the disease of artificially infected plants, and the IFC parameters showed the presence of certain dependencies between them. Thus, the calculation of the Pearson correlation coefficient ( $r_p$ ) between the change in the total number of plants affected by causative agent of Fusarium wilt and the value of the parameter  $(F_m - F_t) / F_m$  of the ICF of their leaves as a result of pre-sowing seed treatment with RL allowed us to establish the value  $r_p = 0.87$  with an average error of the correlation coefficient  $mr = 0.072$ . Thus, a high positive correlation was revealed between the compared indicators of resistance of the melon cv. Kichkintoy to the causative agent of Fusarium wilt: photostimulation of seeds almost completely prevents the manifestation of various symptoms of Fusarium wilt in plants and a decrease in the values of the ICF parameters of leaves, reflecting the activity of FSA.

## DISCUSSION

The results of our studies, which testify to the specific protective action of RL against Fusarium wilt, are consistent with the data of a number of authors on the role of the phytochrome system in the regulation of

plant resistance to pathogens (Horemans et al., 1984; Koreneva, 1996; Mavlonova, 2012). Evidence of the specificity of the effects of RL is the opposite direction of action of RL and FRL on the number and degree of damage to melon plants of the cv. Kichkintoy by the pathogen: in contrast to the pre-treatment of seeds with RL, which activates the phytochrome system, seed treatment with FRL, leading to the reverse photo-conversion of phytochrome from active  $P_{fr}$  to inactive  $P_r$ -form, did not affect the resistance of infected plants compared to the control. It is known that the  $P_{fr}$ -form of phytochrome is a factor that induces the activity of a number of genes responsible for various physiological processes and plant resistance to adverse environmental factors (Quail, 2006). This fact may indicate that the irradiation of seeds with RL through a cascade of phytochrome-dependent reactions contributes to an increase in the integral resistance of melon to infection of plants with the fungus *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, which was effectively recorded by the methods of phytopathological control and ICF.

Indeed, many researchers (Pavlovskaya et al., 1973; Rubin et al., 1974; Kshirsagar et al., 2001; Martinez-Ferri et al., 2016; Akinshina et al., 2016; Babar et al., 2018) note a significant decrease in the photosynthetic activity of plants when affected by phytopathogenic organisms, which may be associated with a decrease in the content of photosynthetic pigments, a violation of the outflow of photosynthesis products due to PSA damage. At the same time, disturbances in PSA activity are effectively recorded by the ICF method, the parameters of which vary depending on the degree of plant damage (Voronkov et al., 1976; Avazkhodzhaev et al., 1995; Kshirsagar et al., 2001; Pascual et al., 2010; Aleynikov, Mineev, 2019; Cristhian et al., 2019).

The results of various studies have shown that the disorganizing effect of the pathogenic fungus *F. oxyspo-*

rum in plants is manifested in the suppression of the synthesis of photosynthetic pigments and the functional activity of PSII of chloroplast membranes as well as in a change in the nature of the redistribution of absorbed light energy, which leads to a decrease in the intensity of photochemical conversion (qP) and an increase in non-photochemical quenching (qN) of chlorophyll fluorescence (Kabashnikova, 2014; Abramchik et al., 2019; Cristhian et al., 2019). The change in the spectral-kinetic parameters of the fluorescence of leaves of pathogen-infected melon plants of the cv. Kichkintoy can also be explained by a sharp decrease in the effective quantum yield of photochemical energy conversion in the reaction centers of PS II and an increase in heat dissipation. Pre-sowing treatment of seeds with RL promotes the formation of adaptive properties of the photosynthetic apparatus in infected leaves of the melon cv. Kichkintoy, which prevents the inhibition of PS II reaction centers and the development of non-radiative energy losses. Taking into account the results of the correlation analysis given above, the data of the fluorescent analysis of the functional state of PSA indicate the protective role of RL in the resistance of melon to infection with the phytopathogenic fungus *F. oxysporum* f. sp. *melonis*.

Thus, the results of the studies made it possible to establish the regulatory role of the phytochrome system in the control of the resistance of melon plants of the cv. Kichkintoy to the causative agent of Fusarium wilt, the fungus *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. At the same time, it was shown that an effective way to increase the resistance of the melon cv. Kichkintoy to the negative impact of the phytopathogen is pre-sowing seed treatment with biologically active red light.

## REFERENCES

- Abramchik L.M., Domanskaya I.N., Makarov V.N. et al. Effect of immunity inducers on the structural and functional state of the photosynthetic apparatus and the oxidative status of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) infected with *Fusarium oxysporum*. Trudy Natsionalnoy Akademii nauk Respubliki Belarus. Seriya Biologicheskoy nauki. 2019. V. 64 (2). P. 43–47 (in Russ.).
- Agishev V.S., Khusainov I.A., Zinoviev A.V. et al. Investigation of the spectral and temporal characteristics of the luminescence of higher plants upon excitation by laser radiation with various energy and time parameters. Uzbekskiy Biologicheskii Zhurnal. 2002. N 5–6. P. 80–83 (in Russ.).
- Akhmedzhanov I.G. The regulation of phytoalexins biosynthesis in infected by *Verticillium* wilt pathogen cotton tissues. Fiziologiya rasteniy i genetika. 2014. V. 46 (6). P. 535–540 (in Russ.).
- Akhmedzhanov I.G., Agishev V.S., Dzholdasova K.B. et al. The use of a portable fluorimeter to study the effect of water deficit on the characteristics of delayed fluorescence of cotton leaves. Doklady Akademii nauk Uzbekistana. 2013. № 3. P. 58–60 (in Russ.).
- Akhmedzhanov I.G., Gussakovskiy E.E., Tashmukhamedov B.A. et al. A method for increasing the resistance of cotton to damage by the causative agent of *Verticillium* wilt. Author. certificate no 1782387 State Committee for Inventions of the USSR, 1992 (in Russ.).
- Akinshina N.G., Rashidova D.K., Azizov A.A. Seed encapsulation in chitosan and its derivatives restores levels of chlorophyll and photosynthesis in wilt-affected cotton (*Gossypium* L., 1753) plants. Selskokhozyaistvennaya biologiya. 2016. V. 51 (5). P. 696–704 (in Russ.). <https://doi.org/10.115389/agrobiology.2016.5.696eng>
- Alekseeva K.L., Smetanina L.G. Biological protection of tomato from *Fusarium* wilt. Glavniy Agronom. 2019. № 11. P. 62–65 (in Russ.).
- Aleynikov A.F., Mineev V.V. Effect of the fungus of *Ramularia tulasnei* Sacc. on chlorophyll fluorescence in garden strawberry. Sibirskiy vestnik selskokhozyaistvennoy nauki. 2019. 49 (2). P. 94–102 (in Russ.).
- Alvarez J.M. Morphological and molecular characterization of melon accessions resistant to *Fusarium* wilts. Euphytica. 2009. V. 169. P. 69–79.
- Avazkhodjaev M.Kh., Zeltzer S.S., Nuritdinova H. et al. Phytoalexins as a factor in Wilt Resistance of Cotton. In: Handbook of phytoalexin metabolism and action. N.Y. etc., 1995, pp. 129–160.
- Babar M.A., Saleem M., Hina A. et al. Chlorophyll as biomarker for early disease diagnosis. Laser Physics. 2018. V. 28 (6). P. 158–163.
- Banihashem Z., DeZeeuw D.J. The behavior of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in the presence and absence of host plants. Phytopathology. 1975. V. 65. P. 1212–1217.
- Baysal O., Calskan M. An inhibitory effect of a new *Bacillus subtilis* strain (EU07) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 2008. V. 73 (1/3). P. 25–32.
- Butler W.L., Norris K.H., Siegelman H.W. et al. Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1959. V. 45. P. 1703–1708.
- Casal J.J., Sanchez R.A. Phytochromes and seed germination. Seed Science Research. 1998. V.8. P. 317–329.
- Chen M., Chory J. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. Trends Cell Biol. 2011. V. 21. P. 664–671. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2011.07.002>
- Cristhian C.C.A., Sandra G.C., Herman R.D. Physiological, biochemical and chlorophyll fluorescence parameters of *Physalis peruviana* L. seedlings exposed to different short-term waterlogging periods and *Fusarium* wilt infection. Agronomy. 2019. V. 9 (5). P. 213–219.
- Dospikhov B.A. Field experiment technique (with the basics of statistical processing of research results). Agropromizdat, Moscow, 1985 (in Russ.).
- Egel D.S., Martyn R.D. *Fusarium* wilt of watermelon and other cucurbits. Plant Health Instruct., 2007. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2007-0122-01>
- Elena K., Pappas A.C. Race distribution, vegetative compatibility and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* isolates in Greece. J. Phytopathol. 2006. V. 154. P. 250–255.
- Galvao V.C., Fankhauser C. Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. Curr. Opin. Neurobiol. 2015. V. 34. P. 46–53.

- Gordon T.R., Okamoto D., Jacobson D.J. Colonization of muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and other species of *Fusarium*. Phytopathology. 1989. V. 79. P. 1095–1100.
- Horemans S., Van Oncelen H.A., Greef J.A. Phytochrome control mechanisms in leaf expansion of *Phaseolus vulgaris* cv Limburg. Plant, Cell and Environ. 1984. V. 7 (5). P. 309–315.
- Jahanshir A., Dzhililov F. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* associated with Fusarium wilt of tomato. J. Plant Prot. Res. 2010. V. 50 (2). P. 172–178.
- Kabashnikova L.F. Photosynthetic apparatus and stress in plants. Nauka, Minska, 2014 (in Russ.).
- Koreneva I.V. The influence of electromagnetic radiation on the development and non-specific stability of different genotypes of agricultural crops. Thesis ... Cand. Agric. Kharkov, 1996 (in Russ.).
- Korneev D.Yu. Information possibilities of the method of inducing fluorescence of chlorophyll. Alterpres, Kiev, 2002 (in Russ.).
- Kreslavski V.D., Carpentier R., Klimov V.V. et al. Transduction mechanism of photoreceptor signals in plant cells. J. Photoch. Photobiol. C. Photochem. Reviews. 2009. V. 10. P. 63–80 (in Russ.).
- Kreslavsky V.D. Regulation of stress-resistance of the photosynthetic apparatus by inductors of various nature. Diss. ... Doct. Biol. Moscow, 2010 (in Russ.).
- Kshirsagar A., Reid A.J., McColl S.M. et al. The effect of fungal metabolites on leaves as detected by chlorophyll fluorescence. New Phytol. 2001. V. 151 (2). P. 451–457.
- Kurt S., Baran B., Sari N. et al. Physiologic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in the southeastern Anatolia Region of turkey and varietal reactions to races of the pathogen. Phytoparasitica. 2002. V. 30. P. 395–402.
- Kuznetsov E.D., Sechnyak L.K., Kindruk N.A. et al. The role of phytochrome in plants. Agropromizdat, Moscow, 1986 (in Russ.).
- Legris M., Çaka Y., Fankhauser C. Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. Nature Communications. 2019. V. 10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13045-0>
- Lichtenthaler H.K. The Kautsky effect: 60 years of chlorophyll fluorescence induction kinetics. Photosynthetica. 1992. V. 27 (1–2). P. 45–55.
- Maksimov I.V., Veselova S.V., Nuzhnaya T.V. et al. Plant growth-stimulating bacteria in the regulation of plant resistance to stress factors. Physiologia rasteniy. 2015. V. 62 (6). P. 763–775 (in Russ.).
- Mandal K., Saravanan R., Maiti S. et al. Effect of downy mildew disease on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Plantago ovata* Forsk. J. Plant Dis. Prot. 2009. V. 116. (4). P. 164–168.
- Martinez-Ferri E., Zumaquero A., Ariza M.T. et al. Nondestructive detection of white root rot disease in avocado root-stocks by leaf chlorophyll fluorescence. Plant Dis. 2016. V. 100. P. 49–58. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0062-RE>
- Martyn R.D. Fusarium wilt of watermelon: 120 years of research. Horticultural Reviews. 2014. V. 42. P. 349–441.
- Mathews S. Phytochrome-mediated development in land plants: red light sensing evolves to meet the challenges of changing light environments. Mol. Ecol. 2006. V. 15. P. 3483–3503. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03051.x>
- Matsumoto Y. Evaluation of *Cucumis ficifolius* A. Rich. Accessions for Resistance to Fusarium wilt. Amer. J. Experimental Agriculture. 2012. № 2 (3). P. 470–476.
- Matsumoto Y., Ogawara T., Miyagi M. et al. Response of wild *Cucumis* species to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1,2 y. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 2011. V. 80. P. 414–419.
- Mavlanova S.A. Physiological and biochemical features of the induced resistance of cotton to sucking insect pests and the causative agent of verticillous wilt. Diss. ... Cand. Agric. Tashkent, 2012 (in Russ.).
- Miller N.F., Standish J.R., Quesada-Ocampo L.M. Sensitivity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to prothioconazole and pydiflumetofen in vitro and efficacy for Fusarium wilt management in watermelon. Plant Health Progress. 2020. V. 21. P. 13–18. <https://doi.org/10.1094/PHP-08-19-0056-RS>
- Namiki F., Shiomi T., Nishi K. et al. Pathogenic and genetic variation in the Japanese strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Phytopathology. 1998. V. 88. P. 804–810.
- Novikova I.I. Biological rationale for the creation and use of polyfunctional biological products based on antagonist microbes for phytosanitary optimization of agroecosystems. Diss. ... Dr. Biol. St. Petersburg, 2005 (in Russ.).
- Okungbowa F.I., Shittu H.O. Fusarium wilts: an overview. Environmental Research Journal. 2012. V. 6 (2). P. 83–101.
- Pan R.S., More T.A. Screening of melon (*Cucumis melo* L.) germplasm for multiple disease resistance. Euphytica. 1996. V. 88. P. 125–128.
- Pascual I., Azcona I., Morales F. et al. Photosynthetic response of pepper plants to wilt induced by *Verticillium dahliae* and soil water deficit. J. Plant Physiol. 2010. V. 167 (9). P. 701–708.
- Pavlovskaya N.E., Tukhtaeva G.M., Khoyayev A.S. On the quantitative change in pigments and photochemical activity of cotton chloroplasts under the influence of the fungus *Verticillium dahlia*. Uzbekskiy Biologicheskii Zhurnal. 1973. № 2. P. 26–28 (in Russ.).
- Petkar A., Ping S.J. Infection courts in watermelon plants leading to seed infestation by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Phytopathology. 2017. V. 107 (7). P. 828–833. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-16-0429-R>
- Pham V.N., Kathare P.K., Huq E. Phytochromes and phytochrome interacting factors. Plant Physiol. 2018. V. 176. P. 1025–1038. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01384>
- Pikulenka M.M., Bulychev A.A. Using the parameters of fluorescence and the generation of electric potentials in the membranes of plant cells to assess the state of biological objects. Byulleten Moskovskogo obshchestva ispitately prirody. Seriya Biologiya. 2007. V. 112 (1). P. 80–84 (in Russ.).
- Posudin Yu.I., Godlevska O.O., Zaloilo I.A. et al. Application of portable fluorometer for estimation of plant tolerance to abiotic factors. Int. Agrophysics. 2010. V. 24 (4). P. 363–368 (in Russ.).
- Ptushenko V.V., Ptushenko O.S., Tikhonov A.N. Induction of chlorophyll fluorescence, chlorophyll content and leaf

- color characteristics as indicators of the aging of the photosynthetic apparatus in woody plants. *Biokhimiya*. 2014. V. 79 (3). P. 260–272 (in Russ.).
- Quail P.H.* Phytochrome signal transduction network photomorphogenesis in plants and bacteria, 3rd edition. Springer, Dordrecht, 2006. P. 335–356.
- Quail P.H.* Phytochrome-interacting factors. In: *G.C. Whitelam and K.J. Halliday* (eds). Light and plant development. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 2007, pp. 81–105.
- Rao V.G., Dhutraj D.N., Navgire K.D. et al.* Efficacy of *Trichoderma* fortified organic amendments on Fusarium wilt suppression, growth and yield of eggplant. *Asian J. Advances in Agricultural Research*. 2021. P. 1–16.
- Registeri R., Taghavi S.M., Banihashemi Z.* Effect of root colonizing bacteria on plant growth and Fusarium wilt in *Cucumis melo*. *J. Agricultural Science and Technology*. 2012. V. 14 (5). P. 1121–1131.
- Rockwell N.C., Su Y.S., Lagarias J.C.* Phytochrome structure and signaling mechanisms. *Ann. Rev. Plant Biol.* 2006. V. 57. P. 837–858.
- Romanov V.A., Galeluca I.B., Sakharan E.V.* Portable fluorimeter and features of its application. *Sensornaya elektronika i mikroskopicheskiyeologii*. 2010. V. 1 (7). P. 146–152 (in Russ.).
- Rubin B.A., Voronkov L.A., Perova I.A. et al.* Changes in the pigment composition of cotton leaves with *Verticillium* wilt disease. *Biologicheskie Nauki*. 1974. № 9. P. 57–63 (in Russ.).
- Sineshchekov V.A.* Phytochrome A: polymorphism and multifunctionality. Moscow, 2013 (in Russ.).
- Szurmant H., White R.A., Hoch J.A.* Sensor complexes regulating two-component signal transduction. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2007. V. 17. P. 706–715.
- Trionfetti-Nisini P., Colla G., Granati E. et al.* Rootstock resistance to Fusarium wilt and effect on fruit yield and quality of two muskmelon cultivars. *Sci. Hortic.* 2002. V. 93. P. 281–288.
- Veselovsky V.A., Veselova T.V.* Luminescence of plants. Theoretical and practical aspects. Moscow, 1990 (in Russ.).
- Voronkov L.A., Perova I.A., Shvyreva V.V.* The effect of *Verticillium* wilt infection on the structure and functions of the photosynthetic apparatus of cotton. In: *Pathological physiology and plant immunity*. Moscow, 1976, pp. 172–188 (in Russ.).
- Wu G., Zhao I., Sen R. et al.* Characterization of maize phytochrome-interacting factors in light signaling and photomorphogenesis. *Plant Physiol.* 2019. V. 181. P. 789–803. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00239>
- Zuniga T.L., Zitter T.A., Gordon T.R. et al.* Characterization of pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing Fusarium wilt of melon in New York. *Plant Dis.* 1997. V. 81. P. 592–596.
- Абрамчик Л.М., Доманская И.Н., Макаров В.Н. и др.* (Abramchik et al.). Влияние индукторов иммунитета на структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата и окислительный статус растений огурца (*Cucumis sativus* L), инфицированных *Fusarium oxysporum* // *Известия НАН Беларуси. Сер. биол. наук*. 2019. Т. 64. № 2.
- Агишев В.С., Хусаинов И.А., Зиновьев А.В. и др.* (Agishev et al.). Исследование спектральных и временных характеристик люминесценции высших растений при возбуждении лазерным излучением с различными энергетическими и временными параметрами // *Узб. биол. журн.* 2002. № 5–6. С. 80–83.
- Акиншина Н.Г., Рашидова Д.К., Азизов А.А.* (Akinshina et al.). Капсулирование семян препаратами хитозана и его производных восстанавливает фотосинтез у растений хлопчатника (*Gossypium L.*, 1753) на фоне вилта // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51. № 5. С. 696–704.
- Алейников А.Ф., Минеев В.В.* (Aleynikov, Mineev). Изменение флуоресценции хлорофилла земляники садовой при воздействии гриба *Ramularia tulasnei* Sacc. // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2019. Т. 49. № 2. С. 94–102.
- Алексеева К.Л., Сметанина Л.Г.* (Alekseeva, Smetanina). Биологическая защита томата от фузариозного увядания // *Главный агроном*. 2019. № 11. С. 62–65.
- Ахмеджанов И.Г.* (Akhmedzhanov). Регуляция биосинтеза фитоалексинов в инфицированных возбудителем вертициллезного вилта тканях хлопчатника // *Физиология растений и генетика* (Киев). 2014. Т. 46. № 6. С. 535–540.
- Ахмеджанов И.Г., Гуссаковский Е.Е., Ташмухамедов Б.А. и др.* (Akhmedzhanov et al.). Способ повышения устойчивости хлопчатника к поражению возбудителем вертициллезного вилта // Автор. свид. № 1782387 Госкомизобретений СССР. 22.10.92 (заявка № 4897312).
- Ахмеджанов И.Г., Агишев В.С., Джолдасова К.Б. и др.* (Akhmedzhanov et al.). Применение портативного флуориметра для исследования влияния водного дефицита на характеристики замедленной флуоресценции листьев хлопчатника // *ДАН РУз*. 2013. № 3. С. 58–60.
- Веселовский В.А., Веселова Т.В.* (Veselovsky, Veselova). Люминесценция растений. Теоретические и практические аспекты. М.: Наука, 1990. 176 с.
- Воронков Л.А., Перова И.А., Швырева В.В.* (Voronkov et al.). Влияние заражения вертициллезным вилтом на структуру и функции фотосинтетического аппарата хлопчатника // *Патологическая физиология и иммунитет растений*. МГУ, 1976. С. 172–188.
- Доспехов Б.А.* (Dospikhov). Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
- Кабашишникова Л. Ф.* (Kabashnikova). Фотосинтетический аппарат и стресс у растений. Минск: Беларус. навука, 2014. 267 с.
- Коренева И.В.* (Koreneva). Влияние электромагнитного излучения на развитие и неспецифическую устойчивость разных генотипов сельскохозяйственных культур. Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. Харьков, 1996. 26 с.
- Корнеев Д.Ю.* (Korneev). Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. Киев: Альтерпрес, 2002. 188 с.
- Креславский В.Д.* (Kreslavsky) Регуляция стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата индукторами различной природы. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М., 2010. 40 с.

- Кузнецов Е.Д., Сечняк Л.К., Киндрук Н.А. и др. (Kuznetsov et al.). Роль фитохрома в растениях. М.: Агропромиздат, 1986. 288 с.
- Мавланова С.А. (Mavlanova). Физиолого-биохимические особенности индуцированной устойчивости хлопчатника к сосущим насекомым-вредителям и возбудителю вертициллезного вилта. Дисс. ... канд. биол. наук. Ташкент, 2012. 132 с.
- Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В. и др. (Maksimov et al.). Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. 2015. Т. 62. № 6. С. 763–775.
- Новикова И.И. (Novikova). Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Дисс. ... докт. биол. наук. СПб., 2005. 755 с.
- Павловская Н.Е., Тухтаева Г.М., Ходжаев А.С. (Pavlovskaya, Tukhtaeva, Khojaev). О количественном изменении пигментов и фотохимической активности хлоропластов хлопчатника под влиянием гриба *V. Dahliae* // Узб. биол. журн. (Ташкент). 1973. № 2. С. 26–28.
- Пикуленко М.М., Булычев А.А. (Pikulenko, Bulychyev). Использование параметров флуоресценции и генерации электрических потенциалов в мембранах растительных клеток для оценки состояния биологических объектов // Бюлл. Моск. о-ва испыт. природы. Отд. биол. 2007. Т. 112. № 1. С. 80–84.
- Птушенко В.В., Птушенко О.С., Тихонов А.Н. (Ptushenko et al.). Индукция флуоресценции хлорофилла, содержание хлорофилла и характеристики цветности листьев как показатели старения фотосинтетического аппарата у древесных растений // Биохимия (Москва). 2014. Т. 79. № 3. С. 260–272.
- Рубин Б.А., Воронков Л.А., Перова И.А. и др. (Rubin et al.). Изменение пигментного состава листьев хлопчатника при заболевании вертициллезным вилтом // Биологические науки. 1974. № 9. С. 57–63.
- Синещеков В.А. (Sineshchekov). Фитохром А: полиморфизм и многофункциональность. М.: Научный мир, 2013. 162 с.

## Фитохром-зависимая регуляция устойчивости дыни к поражению фузариозным вилтом

И. Г. Ахмеджанов<sup>а, #</sup>, М. М. Хотамов<sup>б, ##</sup>, Ф. К. Ганиев<sup>с, ###</sup>, Е. Е. Лян<sup>с, ##</sup>

<sup>а</sup>Институт биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана, Ташкент, Узбекистан

<sup>б</sup>Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Узбекистана, Кибрай, Узбекистан

<sup>с</sup>Научно-исследовательский институт овощеводства и картофелеводства Министерства сельского хозяйства Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

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

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

<sup>###</sup>e-mail: sabpkiti@qshv.uz

Исследовано влияние предпосевной обработки семян светом красной области спектра на устойчивость растений дыни (*Cucumis melo*) сорта Кичкинтой к поражению фузариозным вилтом, вызываемому фитопатогенным грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Выявлена разнонаправленность эффектов красного и дальнего красного света на степень поражения растений патогеном, которую определяли по характерным симптомам болезни на листьях и стеблях растений. При чередовании обработки семян красным и дальним красным светом конечный эффект определялся тем видом облучения, который действовал последним. Результаты фотобиологического тестирования позволили установить участие фитохромной системы в контроле устойчивости растений дыни сорта Кичкинтой к фузариозному вилту. Показано наличие высокой положительной корреляции между параметрами индукции флуоресценции хлорофилла листьев, отражающих функциональную активность фотосинтетического аппарата, и степенью поражения растений, выращенных из необлученных и облученных красным светом семян. Результаты проведенных исследований устанавливают возможность эффективной регуляции устойчивости дыни сорта Кичкинтой к поражению грибом *F. oxysporum* f. sp. *melonis* посредством фотоактивации фитохромной системы семян перед посевом.

**Ключевые слова:** красный свет, устойчивость к патогену, флуоресценция хлорофилла, фотосинтез, *Cucumis melo*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

## ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 632.4.01/08

### МИКОБИОТА КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

© 2023 г. А. Ф. Белосохов\*, М. М. Ярмеева<sup>1,\*\*</sup>, С. М. Миславский<sup>2,\*\*\*</sup>, М. Л. Курчаев<sup>2,\*\*\*\*</sup>,  
А. М. Долгов<sup>1,\*\*\*\*\*</sup>, Г. П. Албантов<sup>2,\*\*\*\*\*</sup>, Д. Н. Скоков<sup>2,\*\*\*\*\*</sup>, А. А. Цинделиани<sup>2,\*\*\*\*\*</sup>,  
Л. Ю. Кокаева<sup>1,2,\*\*\*\*\*</sup>, Е. М. Чудинова<sup>2,\*\*\*\*\*</sup>, С. Н. Еланский<sup>1,2,\*\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов, 117198 Москва, Россия

\*e-mail: arsenybelosokhov.msu.bios@gmail.com

\*\*e-mail: yarmeeva.maria.2014@post.bio.msu.ru

\*\*\*e-mail: mislavskiy.sm@yandex.ru

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

\*\*\*\*\*e-mail: adolgov31@yandex.ru

\*\*\*\*\*e-mail: albanov99@mail.ru

\*\*\*\*\*e-mail: 1032193187@rudn.ru

\*\*\*\*\*e-mail: archil7876@yandex.ru

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

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

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

Поступила в редакцию 11.04.2022 г.

После доработки 15.07.2022 г.

Принята к публикации 07.11.2022 г.

В работе приведены сведения о выделенных с клубней картофеля штаммах 53 видов грибов. Образцы пораженных и здоровых клубней картофеля собраны в различных регионах России (Астраханская, Брянская, Владимирская, Воронежская, Иркутская, Калужская, Костромская, Магаданская, Московская, Тамбовская, Тульская области; Республики Адыгея, Крым, Марий Эл, Саха-Якутия, Камчатский и Краснодарский края) в период с 2014 по 2022 г. Из представленных в работе 36 видов являются новыми и ранее не обнаруживались на клубнях. Среди них встречаются как фитопатогены, так и виды, которые могут быть использованы как потенциальные агенты биоконтроля (конкурентоспособные сапротрофы, микотрофы). Найдены виды, известные как эндофиты, а также малоизученные виды, чья роль остается неизвестной. В работе не приведены общеизвестные патогены картофеля, новые виды, информация о которых была ранее опубликована авторами, а также разнообразие грибов рода *Fusarium*, по которому готовится отдельная публикация. В целом, проведенное исследование показывает сложное многообразие грибов в составе микобиоты клубня картофеля.

**Ключевые слова:** биоразнообразие, защита клубней, картофелеводство, патогены, сапротрофы

**DOI:** 10.31857/S0026364823020046, **EDN:** NIDZAK

### ВВЕДЕНИЕ

Картофель – одна из ключевых сельскохозяйственных культур, объемы валового производства которого в России в 2021 г. составили 18.3 млн т. (Росстат), что делает Россию третьей в мире страной по производству культуры (World potato production, 2022) с многомиллионным внутренним и экспортным рынком. При этом экономические потери от болезней картофеля в отдельных хозяйствах могут составлять 30–70%, а в некоторых случаях – до 100% (Карса, 2008).

Несмотря на большую важность грибных инфекций картофеля с экономической точки зрения, в настоящий момент лишь для нескольких

наиболее опасных патогенов проводятся мониторинговые исследования, причем характер многих исследований основан на оценке лишь внешней симптоматики поражений, что удобно для агротехнической оценки потерь производства, но упускает важные сведения, необходимые для фитопатологического мониторинга. За последнее время накоплено достаточно большое количество данных, свидетельствующих о появлении новых и скрытых инфекций (Fiers et al., 2012; Tiwari et al., 2020), новых видов патогенов (Duellman et al., 2021; Loit, 2021; Yang et al., 2021) и о значении видовых сообществ ризосферы для здоровья картофеля (Kumar et al., 2014; Loit, 2021; Zimudzi et al., 2018). Новые

методы диагностики и исследования филогенетического разнообразия в ассоциациях грибов почв позволили обнаружить, что реальное разнообразие почвенных микромицетов, с которыми может взаимодействовать клубень, выходит далеко за рамки отношений “патоген—хозяин”, и картина продолжает усложняться (García-Ávila et al., 2018; Loit, 2021). Претерпевает изменения и взгляд на хорошо известные патогены клубней. Так, разнообразие грибов рода *Fusarium* на картофеле значительно расширилось за счет более точных систем диагностики (Estrada et al., 2010; Stefańczyk et al., 2016). Ассоциации микромицетов на клубнях картофеля — это сложные комплексы, выходящие далеко за пределы классических агротехнических представлений, отраженных в привычных методиках выращивания и защиты картофеля. При современной тенденции в сторону “зеленых технологий” культивирования и применения биотехнологических методов, большая роль отводится подбору агентов биоконтроля и поддержанию здоровых сообществ ризопланы (Mazzola, Freilich, 2017). В этой связи изучение комплексов почвенной микробиоты в ассоциациях с клубнями и выявление скрытого биологического разнообразия представляется необходимой и первостепенной задачей в мероприятиях по обеспечению современных мер по защите урожая картофеля и разработке актуальных нормативных актов.

Данная работа осуществляет первый шаг в заполнении белых пятен в сфере разнообразия сообществ грибов на клубнях картофеля с акцентом на малоизученные и новые виды.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе была исследована микобиота клубней *Solanum tuberosum* разной степени пораженности, которые были собраны в период с 2014 по 2022 г. в различных регионах России (Астраханская, Брянская, Владимирская, Воронежская, Иркутская, Калужская, Костромская, Магаданская, Московская, Тамбовская, Тульская области; республики Адыгея, Крым, Марий Эл, Саха-Якутия, Приморский, Камчатский и Краснодарский края). Для анализа отбирались клубни, выращенные на полях специализированных растениеводческих хозяйств, на участках личных подсобных хозяйств, а также в картофелехранилищах на разных этапах хранения. Внешние условия произрастания клубней, такие как режим полива, обработка фунгицидами, характер севооборота и сопутствующие инфекции на каждом месте сбора были различными.

Сбор клубней в поле проходил в августе — сентябре, когда уже сформированные клубни картофеля достигли товарного размера, однако ботва еще оставалась зеленой. Отбор клубней из хранилищ проводили в течение всего периода хранения клубней с периодичностью в 1–2 месяца; таким

образом, затрагивался весь период хранения клубня от закладки в сентябре и до финальной выгрузки из хранилищ в августе. Каждая отобранная проба представляла собой 5–10 клубней с симптомами от средней пораженности до внешне здоровых, без симптомов поражения.

Клубни тщательно отмывали от поверхностного слоя почвы, после чего опускали на 2 мин в 1–3%-й р-р гипохлорита натрия для стерилизации кожуры от поверхностных сапротрофов. От клубней стерильным ножом отрезали здоровые или с поражениями кусочки кожуры и закладывали в стерильные влажные камеры на 2–4 сут при комнатной температуре. Из пораженных тканей с четко выраженным мицелием одного вида вырезали стерильным скальпелем кусочки и закладывали напрямую на питательную среду с антибиотиком. Для выделения чистых культур использовали чашки Петри со средами картофельно-глюкозный агар (PDA) или сусло-агар (MEA) (все использованные в работе питательные среды приготовлены по Crous et al., 2009) с добавлением антибиотика (гентамицин; 20 мг/л).

Идентификацию по морфолого-культуральным признакам проводили на стандартной среде PDA и/или MEA на 7–10-е сут роста при 25°C на свету для большинства культур. Грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium* дополнительно высаживали на агар Чапека (CZA). Грибы семейства *Chaetomiaceae* высаживали на ОА и инкубировали в течение 7 сут при 25°C в темноте. Стерильные изоляты этого семейства дополнительно высаживали на кукурузный агар (CMA), картофельно-сахарозный агар (PCA), MEA и среду Гетчинсона с различными источниками целлюлозы. Идентификацию проводили с применением методов световой микроскопии на микроскопах ЛОМО Микмед-6 Вар.3 и Leica DM 2500 (Leica Microsystems, Германия). Приготовление микроскопических препаратов проводили в лактофеноле (молочная кислота — 100 мл, фенол — 100 г, глицерол — 200 мл, дистиллированная вода — 100 мл), под предметным стеклом или с применением специализированной адгезивной прозрачной пленки Scotch® Crystal, с применением иммерсии. Для первичной идентификации использовали определительные ключи (Domsch et al., 2007), после чего для более точной идентификации внутри родов применяли специальные монографии родов и семейств.

Для получения ДНК чистых культур грибов изоляты высевали на стандартную среду PDA с целлофаном. Снятие мицелия производилось через 3–4 сут во время активной фазы роста. Мицелий гомогенизировали в СТАВ-буфере с шариками оксида циркония Bertin Corp. (Франция) на гомогенизаторе The Precellys® Evolution (Bertin Instruments, Франция). Дальнейшее выделение проводили как описано в работах Kutuzova et al. (2017) и Elansky et al. (2022).

Концентрацию ДНК выделенных культур доводили до 50 нг/мкл и амплифицировали по специфическим участкам: для большинства изолятов был взят ген *5.8S* рРНК вместе с регионами 1 и 2 внутренних транскрибируемых спейсера (ITS) (праймеры ITS1F и ITS4, Gardes, Bruns, 1993, White et al., 1990). В качестве дополнительных участков при необходимости анализировали части генов *b-tub* (T1 и TUB4Rd, O'Donnell, Cigelnik, 1997; Groenewald et al., 2013) и *rpb2* (rpb2-5F2 и rpb2AM-7R, Sung et al., 2007; Miller, Huhndorf, 2005).

Температуру отжига для каждого праймера определяли с помощью программы Promega calculator, заимствовали из литературных источников, либо определяли опытным путем. Производством праймеров занималась компания “Евроген” (Россия). Амплификацию проводили по протоколам, описанным Poluektova et al. (2021).

Разделение фрагментов ДНК, полученных в результате амплификации, проводили методом стандартного электрофореза в агарозном геле с TBE-буфером. Ампликоны нужной длины экстрагировали из геля с помощью набора CleanUp компании “Евроген”. Амплифицированные участки секвенировали с использованием набора реактивов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США, Калифорния) на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 xl (Applied Biosystems, США, Калифорния). Полученные последовательности нуклеотидов обрабатывались в программе Geneious Prime и использовались для поиска соответствия в GenBank для видового определения с помощью программы BLASTn.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты работы представлены в виде аннотированного списка. Обсуждение составлено в виде комментариев к записям о новых видах, отмеченных для картофеля. Виды, ранее отмечавшиеся на картофеле, приведены без комментариев. В списке не приводятся сведения об обнаруженных нами видах фитопатогенных грибов, которые были ранее опубликованы в отдельных работах: *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Elansky et al., 2015), *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S. Hughes (Belov et al., 2018), *Alternaria* spp. (Kokaeva et al., 2018, 2022; Kokaeva, Elansky, 2022), *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn (Yarmeeva et al., 2021), *Helminthosporium solani* Durieu et Montagne (Kutuzova et al., 2017; Chudinova et al., 2020), *Acrostalagmus luteoalbus* (Link) Zare, W. Gams et Schroers (Chudinova et al., 2022), *Plyonectria crassa* (Wollenw.) A. Cabral et Crous (Chudinova et al., 2019), *Septotinia populiperda* Waterman et E.K. Cash ex B. Sutton (Chudinova, Elansky, 2021), *Trichocladium solani* Belosokhov et Elansky (Belosokhov et al., 2022). Также не приводятся ви-

ды рода *Fusarium*, так как по ним готовится отдельная публикация.

“МО” – используемое в списке сокращение для обозначения Московской обл. “морф. по:” – сокращение для указания литературы, использованной для морфологического подтверждения в дополнение к молекулярной идентификации. В квадратных скобках приводится ссылка на ID секвенированных последовательностей генов изолятов в базе данных GeneBank.

## Базидиомицеты

*Athelia epiphylla* Pers. – Краснодарский край, сорт Королева Анна, 10.04.2020, Еланский, 182PT19AB [OP289073]. – Новый вид для клубней картофеля в России и в мире. В природе – кортиционидный базидиомицет на хвойном опаде (Larsen et al., 1981). На клубнях и в культуре образует плотные белые склероции. Патогенный статус не установлен, известно, однако, что другие виды *Athelia* могут являться патогенами культурных растений (Adams, Kropp, 1996).

*Flammulina rossica* Redhead et R.H. Petersen – МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Ла Страда, 06.07.2019, Белосохов, 236PT20AB [OP289059]. – Относительно редкий вид, в природе обычно обитающий на древесине лиственных растений (Adamčík, Ripková, 2008) и никогда ранее не отмечавшийся для картофеля в России и в мире. Культура с клубней в питательной среде образует плотные белые склероции. Имеются сведения о присутствии в некоторых штаммах алкалоидов энокиподинов, способных в экспериментах контролировать рост некоторых патогенных грибов и бактерий (Tabuchi et al., 2020).

## Аскомицеты

*Acremonium minutisporum* (Sukapure et Thirum.) W. Gams – МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Ла Страда, 03.04.2018, Белосохов, 59MPT18AB. Морф. по: Summerbell et al. (2011). Новый для картофеля вид, редко упоминаемый в литературе, несмотря на описание в 1963 г. Экология изучена очень слабо. Известен как эндофит в ризосфере капустных (Majchrzak et al., 2013). Патогенная роль на клубнях маловероятна, так как для вида была показана слабая лакказная, ксиланазная и лигнин-пероксидазная активность (Ramarajan, Manohar, 2017).

*Alternaria alstroemeriae* E.G. Simmons et C.F. Hill. – МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, из небольшой чешуйки с внешне здорового клубня, 03.04.2018, Белосохов, 82MPT18AB [OP289030]. Морф. по: Simmons (2007). Вид никогда ранее не отмечался ни на листьях, ни на клубнях картофеля и его патогенный статус в отношении клубней неизвестен. Вид был описан в 2007 г. на декоративном цветковом растении *Alstroemeria*, Liliaceae (Simmons, 2007). На *Alstroemeria* вид вызывает черную пятнистость листьев (Yamagishi et al., 2009). Важно отметить, что *Alstroemeria*, подобно картофелю, является корневишно-клубневым растением. Проведенные в 2013 тесты патогенности показывали способность изолятов *A. alstroemeriae* инфицировать только первичного хозяина и не выявили патогенности

по отношению к растениям *Datura stramonium* и *Capsicum annuum* (Solanaceae) (Nishikawa, Nakashima, 2013).

*A. angustivoidea* E.G. Simmons – 5 находки, МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Гала, 5.08.2017, Белосохов, 38MF17AB; 41MF17AB [OP289014]; п. Горшково, сорт Молли, клубни вегетирующего картофеля, 25.07.2017, Белосохов, 27MPL17AB [OM965337, OM965338]; 28MPL17AB [OM965339, OM965340]; 29MPL17AB [OP289011]. Морф. по: Simmons (2007). Вид ранее не был отмечен для картофеля. Описывается как патоген, используемый в биоконтроле сорного растения *Euphorbia* в литературе прошлого столетия (Yang, 1990). Криптический вид с тех пор практически не упоминался в литературе [лишь в 2011 г. как эндофит на *Suaeda* (Sun et al., 2011)], после чего внезапно появился совсем недавно, в 2020 г. в Индии в огородной почве (Abdel-Sater, 2020) и в 2021 г. в Китае, в почве после ротации картофеля (Qi et al., 2021). Было, однако, показано, что *A. angustivoidea* филогенетически находится очень близко к *A. tenuissima* (Ramires et al., 2018), и, таким образом, изучение других генов изолята представляется необходимым для подтверждения текущей идентификации.

*A. doliconidium* J.F. Li, Camporesi et K.D. Hyde – 4 находки, МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорта Джюра, 7.08.2017, Белосохов, 34MPL17AB [OP289012]; 37MPL17AB; 39MF17AB [OP289013]; Гала, 14.09.2018, Белосохов, 142MPT18AB. Морф. по: Simmons (2007). Новый вид, описанный в 2018 году на *Rosea canina*, филогенетически близкий к *A. aborescens*, которая является патогеном клубней, обнаруженным во Франции и Саудовской Аравии (Fiers et al., 2012; Gherbawy & Gashgari, 2013). На картофеле ранее не отмечался.

*A. multiformis* (E.G. Simmons) Woudenb. et Crous – Магаданская обл, Сусуман, 07.02.2017, Еланский, 63PT6318AB [OP289020]. Морф. по: Simmons (2007).

*A. poaeicola* Thambug., Camporesi et K.D. Hyde – МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, из клубней вегетирующего картофеля сорта Джюра с маслянистыми поражениями на листьях 07.08.2017, Белосохов, 17MPL35 [OM967392]. Сравнительно новый вид, описанный в 2017 г. на различных злаковых. Был выделен вместе с *A. brassicicola* из тех же субстратов и представлял собой полностью стерильный мицелий, не образующий конидий на голодной среде или при облучении UV, идентифицирован по молекулярным признакам. Описавшие вид авторы упоминают, что вид исключительно телеоморфный и не образует анаморфного спороношения (Thambugala et al., 2017). Экологическая роль вида совершенно не изучена, до сих пор организм упоминался только в филогенетических и таксономических работах.

*Aspergillus alliaceus* Thom et Church – Краснодарский край, сорт Королева Анна, 10.03.2019, Еланский, 291PT19AB [OP289071]. Морф. по: Samson et al. (2011); Houbraeken et al. (2020). – Ранее не отмечавшийся на картофеле вид, со слабо изученной ролью. Известно о способности штаммов продуцировать охратоксины. Использовался в биологическом контроле заразики *Orobancha cernua*, для которой является патогеном (Ayubeke et al., 2014).

*A. pseudodeflectus* Samson et Mouchacca – МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Гала, 03.04.2018, Белосохов, 128MPT18AB [OP289040]. Морф. по: Houbraeken et al. (2007). Новый вид, ранее не отмечавшийся на картофеле. Роль на клубнях неизвестна, хотя есть данные о том, что штаммы могут быть эндофитами *Vitis vinifera* (Stranska et al., 2022)

*A. pseudoglaucus* Blochwitz – Калужская обл., Козельский р-н, с. Нижние Прыски, сорт Романо, 19.05.2018, Еланский, 170MPT18AB [OP289049] – крайне слабо изученный в аграрном значении ксерофильный вид, роль на клубнях не изучена, ранее на картофеле не отмечался.

*Berkeleyomyces basicola* (Berk. et Broome) W.J. Nel, Z.W. de Beer, T.A. Duong et M.J. Wingf. (= *Thielaviopsis basicola*) – МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Гала, 01.11.2017, Белосохов, 50MPT17AB. Морф. по Nel et al. (2018). Переописанный в 2017 г. вид, хорошо известный как возбудитель черной корневой гнили табака и некоторых злаковых (N. Liu et al., 2019); в 2011 г. был впервые выделен как патоген моркови в Саудовской Аравии (Abd Allah et al., 2011) и совсем недавно обнаруженный в Аргентине как патоген батата (Martino et al., 2021). В данной работе впервые изолирован с клубней картофеля.

*Botrytis cinerea* Pers. – две находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Джюра, 01.11.2017, 49MPT17AB; 03.04.2018, 58 MPT18AB, Белосохов, морф. по: Domsch et al. (2007).

*Cephalotrichum asperulum* (J.E. Wright et S. Marchand) Sandoval-Denis, Guarro et Gene – МО, Люберецкий р-н, п. Красково, ВНИИКХ, сорт Гала, 25.12.2019, Еланский, 274PT20AB. Морф. по: Domsch et al. (2007). Практически неизученный вид с неясной экологией. В 2020 г. был идентифицирован на растительных остатках в Иране (Ghоста et al., 2020), гербарные материалы типовых образцов изначально изолированы из гумуса и с зерна (Sandoval-Denis et al., 2016). Патогенный статус неизвестен.

*Cephalotrichum purpureofusum* (S. Hughes) S. Hughes – МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Джюра 03.03.2018, Белосохов, 104MPT18AB. Морф. по: Domsch et al. (2007).

*Cercospora beticola* Saccardo – две находки, Краснодарский край, картофель неизвестного сорта, 1.08.2017, Белосохов, 15KPT17AB [OM967388], 17KPT17AB [OP289010]. Морф. по: Groenewald et al. (2013). Известный агент пятнистости листьев сахарной свеклы, ранее никогда не отмечался на картофеле в России или в мире, однако недавние исследования показали высокую пластичность вида и способность иметь широкий спектр альтернативных хозяев помимо основного (Knight et al., 2019).

*Chaetomium globosum* Kunze ex Fries – две находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Леди Бланка, 14.09.2018, Белосохов, 68MPT18AB [OP289024]; 71MPT18AB [OM965343]. Морф. по: Wang et al. (2019).

*Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G. A. de Vries – 3 находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, Белосохов, различные сорта [OM965344, OM965345]. морф. по: Bensch et al. (2012, 2015).

*C. herbarum* (Pers.) Link – две находки МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Чикаго 1.08.2017, Белосохов, 5MPL17AB [OP289008]; 1MPL17AB. Морф. по: Bensch et al. (2012, 2015).

*C. verrucocladosporioides* Bensch, H.-D. Shin, Crous et U. Braun – МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Джюра 07.08.2017, Белосохов, 33MPL17AB [OM965341]. морф. по: Bensch et al. (2012, 2015).

*Clonostachys compactiuscula* (Sacc.) D. Hawksw. et W. Gams 104 MPT18AB – МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, 03.04.2018, Белосохов, 104MPT18AB. Морф. по: Schroers (2001). – Довольно редкий вид, не-

часто упоминающийся в литературе. Изоляты вида известны из ризосферы, разлагающихся листьев магнолии и других субстратов в умеренно-тропической зоне (Schroers, 2001). Выделенный в Окинаве (Япония) штамм имел высокие показатели продукции клонокпрогенов, структурных аналогов N<sup>14</sup>-пальмитоилспрогена, сильного сидерофора (Ouchi et al., 2020). Высокая афинность к железу может быть причиной показанной способности вида к биоконтролю *Phytophthora infestans* (Oliveira dos Santos et al., 2014). Сам вид, несмотря на имеющиеся тестирования против вышеуказанного патогена картофеля, никогда раньше не выделялся с клубней или вегетирующих растений.

*C. rosea* f. *catenulata* (J.C. Gilman et E.V. Abbott) Schroers — 10 находок, повсеместно [OM965336, OM965347, OM967399, OP289021, OP289025-OP289027, OP289067, OP289070, OP289072]. Морф. по: Schroers (2001).

*C. solani* f. *nigrovirens* (J.F.H. Beuma) Schroers — 15 находок, повсеместно. [OM967396, OP289029, OP289041, OP289054, OP289057, OP289058, OP289060, OP289061, OP289063, OP289065]. Морф. по: Schroers (2001).

*Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn — МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Молли, 03.04.2018, Белосохов, 116 МРТ18АВ. Морф. по: Domsch et al. (2007). Известный корневой патоген различных растений, включая батат (Ray, Vuju, 2003), имеющий способность переходить на различных хозяев (Fajolu et al., 2012). Ранее был обнаружен на клубнях картофеля в Южной Африке (Istifanus et al., 2014) как вторичный патоген. В данной работе выделен с клубней без ярко выраженных повреждений.

*Ilyonectria destructans* (Zinssm.) Rossman, L. Lombard et Crous — МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Гала, семенные клубни, 26.08.2019, Белосохов, 179РТ19АВ. Морф. по: Domsch et al. (2007).

*Dichotomopilus funicola* (Cooke) X. Wei Wang et Samson (= *Chaetomium funicola*) — Краснодарский край, сорт Королева Анна, 10.03.2020, Еланский, 283РТ19 [OP289068]. Морф. по: Wang et al. (2019). В то время, как *Chaetomium globosum* хорошо известен на клубнях в качестве агента биоконтроля заболеваний различных растений (Ashwini, 2019; Bonifaz, Tirado-Sánchez, 2017; Walther, Gindrat, 1988), включая фитофтороз (Shanthiyaa et al., 2013), *Dichotomopilus funicola* не был изолирован из клубней картофеля. Несмотря на это, вид упоминается на связанных с картофелем субстратах, например, в почвах интенсивного выращивания картофеля в Италии (Manici, Caputo, 2009), где, однако, был идентифицирован только по ITS, который не подходит для разделения видов семейства (Wang et al., 2016, 2019), ввиду чего к этой идентификации следует относиться с осторожностью. В Индии вид был идентифицирован на овощных отходах, куда, помимо *Solanum tuberosum* L., входили *Euryale ferox* Salisb., *Phaseolus* sp., *Sechium edule* Sw., *Brassica oleracea* L. var. *botrytis*, *Musa paradisiaca* L. и *Bambusa arundinaceae* Willd. (Sharma, Pandey, 2010). Ввиду смешанного характера итогового субстрата, невозможно утверждать, что в цитируемой работе *Dichotomopilus funicola* был изолирован именно с картофеля.

*Didymella microchlamydospora* (Aveskamp et Verkley) Q. Chen et L. Cai — МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Гала, 28.07.2017, Белосохов, 11М\_17. Фомоидный плеоспоровый вид, мало встречающийся в литературе. Известно, что он является патогеном *Morus nigra* (Akram Ahmadpour et al., 2017) и *Phoenix dactylifera* (Al-Nadabi et al., 2020), и филогенетически отстоит от пато-

генных видов *Phoma* на картофеле (Chen et al., 2015). Был впервые изолирован из клубней картофеля в Московской обл. в период вегетации незадолго перед уборкой, и его патогенный статус не установлен.

*Epicoccum nigrum* Link — МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, сорт Ла Страда, 06.12.2019, Белосохов, 230РТ20АВ [OP289056] — Известный арбускулярно-микоризный гриб, участвующий в биоконтроле корневых патогенных грибов, бактерий и нематод различных растений (Bagy et al., 2019; Li et al., 2013; Zhou et al., 2020), в т.ч. на картофеле. В России задокументирован на картофеле впервые.

*Geotrichum candidum* Link — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Леди Бланка, 14.09.2018, Белосохов, 168МРТ18АВ [OP289048].

*Gibellulopsis nigrescens* (Pethybr.) Zare, W. Gams et Summerb. — две находки, Краснодарский край, 01.08.2017, Еланский, 16КгРТ17АВ [OM965334]; МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Ла Страда, 06.12.2019, Белосохов, 258РТ20АВ. Морф. по: Domsch et al. (2007), Giraldo and Crous (2019)

*Gliomastix murorum* (Corda) S. Hughes — 5 находок, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорта Гала, Демон, Джуга, Белосохов, 2017-2018 [OP289032].

*Humicola mutabilis* X. Wei Wang et Houbraken — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, 03.04.2018, Белосохов, 108МРТ18АВ [OP289035]. Морф. по: Wang et al. (2019). Описанный в 2018 г. вид, единственное упоминание которого приводится из почвы в Израиле (Wang et al., 2019). Это первая находка вида на картофеле. Выделен из клубней без признаков поражения.

*Juxtiphoma eupyrena* (Sacc.) Valenz.-Lopez, Crous, Stchigel, Guarro et Cano — 5 находок Магаданский край, клубень картофеля, 2017, одна находка МО, клубень картофеля, край некроза, 2021, одна находка — Астраханская обл., стебель картофеля, 2021, Еланский, 17МаССК1\_1 [OP896839, OP896840]. *J. eupyrena* описан как почвенный гриб, был также найден на клубнях картофеля (A'Nara, 2015). Все штаммы проявили слабую патогенность при тестировании на ломтиках клубней картофеля.

*Marquandomyces marquandii* (Masse) Samson, Houbraken et Luangsaard — две находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, Белосохов, 01.07.2017, 80МРТ18АВ; 01.11.2017, 48МРТ17АВ. Морф. по: Mongkolsamrit et al. (2020). Вид, применяемый в качестве агента биоконтроля грибов и нематод в сельском хозяйстве (Baron et al., 2020). Ранее упоминался на картофеле лишь в Турции, где был изолирован из склероциев *Rhizoctonia solani* (Diemrci et al., 2011).

*Orbilia oligospora* (Fresen.) Baral et E. Weber — МО, Дмитровский р-н, п. Рогачево, 06.08.2017, Белосохов, 42МСРс17АВ [OM967393]. Морф. по: Domsch et al. (2007), Камчатский край, 2022, Еланский, 22Кам3\_1 [OP978322].

*Penicillium* sp. — восемь находок, сорта Гала, Ла Страда; Тульская обл., сорт Гала, 10.03.2020, Белосохов, 348РТ20АВ. — Грибы рода *Penicillium* считаются повсеместно распространенными почвенными сапротрофами с мало изученной ролью в ризосфере. В литературе можно обнаружить упоминание на клубнях *P. brasilianum*, *P. freii*, *P. paneum*, *P. raistrickii* (Fiers et al., 2012) *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. purpurogenum* (Gherbawu, Gashgari, 2013), однако эти виды не были обнаружены в данной работе. Напротив, приводимые ниже виды рода

*Penicillium*, обнаруженные в России, являются новыми для картофеля.

*Penicillium cavernicola* Frisvad et Samson — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Маэстро, 03.04.2018, Белосохов, 83МРТ18АВ [ОР289031]. морф. по: Houbraken and Samson (2011).

*P. jensenii* K.M. Zalessky — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, неизвестный сорт, 01.11.2017, Белосохов, 43 МРТ17АВ [ОР289015]. Морф. по: Visagie et al. (2014).

*P. olsonii* Bainier et Sartory — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, 14.09.2018, Белосохов, 67МРТ18АВ [ОР289023]. Морф. по: Samson et al. (2004) — выделен со склероциев *Rhizoctonia solani*.

*P. robsamsonii* Houbraken et Frisvad — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Ла Страда, 06.12.2019, Белосохов, 240РТ20АВ [ОР289062]. Морф. по: Houbraken et al. (2020).

*P. subrubescens* Houbraken, Mansouri, Samson et Frisvad — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Джура, 03.04.2018, Белосохов, 61 МРТ18АВ [ОР289019]. Морф. по: Houbraken et al. (2020)

*Plectosphaerella cucumerina* (Lindf.) W. Gams — две находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Джура, 03.04.2018, Белосохов, 132МРТ18АВ [ОР289042]; 161 МРТ18АВ [ОР289047].

*P. oligotrophica* T.T. Liu, D.M. Hu et L. Cai — 3 находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорта Джура, Гала, Ла Страда, Белосохов, 01.11.2017, 45МРТ17АВ [ОР289016]; 03.04.2018, 95МРТ18АВ [ОР289034]; 06.12.2019, 256РТ20АВ [ОР289064]. Морф. по: Liu et al. (2013). Описанный в 2013 г. из почвы в Китае вид до сих пор не упоминался в литературе кроме как в таксономических работах. Это первая находка на картофеле в мире. Во всех случаях выделялся с клубней без признаков поражений.

*Pseudogymnoascus destructans* (Blehert et Gargas) Minnis et D.L. Lindner — МО, Дмитровский р-н, п. Горшково, сорт Гала, 25.07.2017, Белосохов, 21МРТ17АВ [ОМ967389]. Морф. по: Gargas et al. (2009) — термофильный вид, ассоциированный с синдромом белого носа у летучих мышей (Gargas et al., 2009), изредка упоминается как патоген человека, но ранее никогда не отмечался на клубнях картофеля или как растительный патоген. Выделенный изолят не проявлял патогенности по отношению к клубням.

*Pyrenophora trichostoma* (Fr.) Fuckel — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, 28.07.2017, Белосохов, 9МРТ17АВ [ОМ965332]. Плеоспоровый гриб, близкий к *Cochliobolus* и *Curvularia* и известный как возбудитель пятнистости листьев различных злаков (Goonasekara et al., 2020), однако ни разу не отмечался на картофеле, и его роль как агента ризопланы до конца неясна. Изолированный в Московской обл. штамм с клубней в конце периода вегетации представлял собой стерильный изолят, образующий на питательной среде многочисленные погруженные склероции.

*Sarocladium strictum* (W. Gams) Summerbell — две находки, МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, 03.04.2018, Белосохов, 91МРТ18АВ [ОМ967397]; 126МРТ18АВ [ОР289038]. Морф. по: Summerbell et al. (2011).

*Simplicillium aogashimaense* Nonaka, Kaifuchi et Masuma — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, 14.09.2018, Белосохов, 65МРТ18АВ [ОР289022]. — Эндодитный вид, в природе ассоциированный с древесными породами, и участвующий в защите от грибных патогенов (Costa et al., 2020), в данной работе впервые

обнаружен на картофеле, выделен из клубней с симптомами резиновой гнили.

*S. lamellicola* (F.E.V. Sm.) Zare et W. Gams — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, Белосохов, 14.09.2018, 76 МРТ18АВ [ОР289028] — второй вид, идентифицированный на клубнях с симптомами резиновой гнили, где образовывал спороношение, сильно напоминающее *Fusarium*.

*Stilbella aciculosa* (Ellis et Everh.) Seifert — Брянская обл., пос. Кузьмино, сорт Сантэ, 11.2021, Ярмеева, 358 РТ20АВ [ОМ965354]. Нектриевый гриб, новизна которого для клубней картофеля дискусионна. Формально в литературе не существует сообщения об обнаружении вида на клубнях, однако многие коллекционные образцы выделены из разлагающейся картофельной ботвы или из почвы на картофельном поле (Gräfenhan et al., 2011). В РФ этот вид выделен впервые. Вид является, по-видимому, достаточно редким, поскольку в литературе последние упоминания уходят в 1993 г., когда была исследована его эффективность против *Rhizoctonia solani* в качестве агента биоконтроля (Lewis, Papavizas, 1993). С тех пор единственный штамм 112В или его клоны появлялись как референсные культуры в различных исследованиях по биоконтролю, но новые изоляты не выделялись (Brewer, Larkin, 2005; Larkin, Fravel, 1998). В настоящем исследовании вид был изолирован в Брянской обл. из влажных вдавленных потемнений на клубнях, пораженных альтернариозом.

*Talaromyces amestolkiae* N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad et Samson — две находки, Владимирская обл., Камешковский р-н., с. Коверино, сорт Ред Скарлетт, 27.10.2020, Миславский, 356РТ20АВ [ОР289075]; Брянская обл., пос. Кузьмино, сорт Сантэ, Еланский, 11.2021, 357РТ20АВ [ОМ965353]. Морф. по: Houbraken et al. (2020). — Сравнительно недавно (в 2012) описанный вид, про который не так много известно в современной литературе. Подтверждено его присутствие в корнях мангровых деревьев и *Tripterygium wilfordii* (Fu et al., 2020), патогенность в отношении москитов (Jaber et al., 2016), и способность вызывать легочные инфекции у пациентов в группе риска (Villanueva-Lozano et al., 2017). Его штаммы выделялись с широкого круга субстратов: от пшеницы и кофейных ягод до помета или бронхоальвеолярной жидкости иммуносупрессированных пациентов в палатах интенсивной терапии (Yilmaz et al., 2012), а сам вид отличается активным спорообразованием, что делает его потенциальным контаминантом. Однако в текущем исследовании изолят был выделен прямым посевом кусочка ткани пораженного альтернариозом клубня, что говорит о том, что изолят имел прямое отношение к клубням и не являлся случайным контаминантом с поверхности.

*Trichoderma citrinoviride* Bissett — МО, Дмитровский р-н, п. Горшково, сорт Гала, 25.07.2017, Белосохов, 19МРТ17АВ [ОМ965335]. Морф. по: Jaklitsch and Voglmaуt (2015).

*T. harzianum* Rifai — МО, Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала 03.04.2018, Белосохов, 125МРТ18АВ [ОР289037]. Морф. по: (Jaklitsch, Voglmaуt, 2015).

*Verticillium biguttatum* W. Gams — две находки, МО, Одинцовский р-н, р/п Большие Вяземы, ВНИИФ, сорт Гала 17.08.2019, Белосохов, 180РТ19АВ [ОР289051]; Дмитровский р-н, Рогачево, сорт Гала, 26.08.2019, Белосохов, 181РТ19АВ [ОР289052]. Морф. по: Zare and Gams (2000).

*V. tricorpus* I. Isaacs — Тамбовская обл., Мичуринск, 10.01.2020, Белосохов, 193РТ20АВ. Морф. по: Zare, Gams (2000).

Таким образом, проведенная работа показала высокое разнообразие микобиоты, ассоциированной с клубнями картофеля. Из приведенных в работе 53 видов грибов, ассоциированных с клубнями картофеля, 36 ранее не обнаруживались на клубнях. Среди выявленных видов встречаются как патогены, так и потенциальные агенты биоконтроля или эндофиты. При этом подавляющая часть показанного разнообразия представлена крайне малоизученными видами с до конца не ясной экологией и ролью в составе микобиоты картофеля. Это свидетельствует о необходимости тщательного анализа микобиоты при разработке и применении систем защиты картофеля.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1396).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abd Allah E.F., Hashem A., Bahkali A.H. et al.* First report of black root rot disease (*Thielaviopsis basicola*) of carrot in Saudi Arabia. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2011. V. 5 (18). P. 2867–2869. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.396>
- Abdel-Sater M.A.* *Alternaria arborescens* and *Alternaria angustiovoidea*, two new additions to soil fungi of Egypt. *J. Multidisciplinary Sci.* 2020. V. 2 (1). P. 1–6. <https://doi.org/10.33888/jms.2020.211>
- Adamčík S., Ripková S.* New collections of *Flammulina rosea*. *Czech Mycology.* 2008. V. 60 (1). P. 113–121. <https://doi.org/10.33585/cmy.60110>
- Adams G.C., Kropp B.R.* *Athelia arachnoidea*, the sexual state of *Rhizoctonia carotae*, a pathogen of carrot in cold storage. *Mycologia.* 1996. V. 88 (3). P. 459–472. <https://doi.org/10.1080/00275514.1996.12026672>
- A'Hara D.* Detection and identification of *Phoma* pathogens of potato. *Methods Mol. Biol.* 2015. V. 1302. P. 17–27. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2620-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2620-6_2)
- Akram Ahmadpour S., Farokhinejad R., Mehrabi-Koushki M.* Further characterization and pathogenicity of *Didymella microchlamydospora* causing stem necrosis of *Morus nigra* in Iran. *Mycosphere.* 2017. V. 8 (7). P. 835–852. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/7/3>
- Al-Nadabi H., Maharachchikumbura S.S.N., Al-Ghaffi Z.S. et al.* Molecular identification of fungal pathogens associated with leaf spot disease of date palms (*Phoenix dactylifera*). *All Life.* 2020. V. 13 (1). P. 587–597. <https://doi.org/10.1080/26895293.2020.1835740>
- Ashwini C.* A review on *Chaetomium globosum* is versatile weapons for various plant pathogens. *J. Pharmacognosy.* 2019. V. 8 (2). P. 946–949.
- Aybeke M., Şen B., Ökten S.* *Aspergillus alliaceus*, a new potential biological control of the root parasitic weed *Orobanche*. *Journal of Basic Microbiology.* 2014. V. 54 (SUPPL.1). P. S93–S101. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300080>
- Bagy H.M.M.K., Hassan E.A., Nafady N.A. et al.* Efficacy of arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic strain *Epicothium nigrum* ASU11 as biocontrol agents against blackleg disease of potato caused by bacterial strain *Pectobacterium carotovora* subsp. *atrosepticum* PHY7. *Biological Control.* 2019. V. 134 (February). P. 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.03.005>
- Baron N.C., de Souza Pollo A., Rigobelo E.C.* *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. *PeerJ.* 2020. V. 2020 (5). P. e9005. <https://doi.org/10.7717/peerj.9005>
- Belosokhov A.F., Yarmeeva M.M., Kokaeva L.Yu. et al.* *Trichocladium solani* sp. nov. — a new pathogen on potato tubers causing yellow rot. *Journal of Fungi.* 2022. V. 8(11). № 1160. <https://doi.org/10.3390/jof8111160>
- Belov G.L., Belosokhov A.F., Kutuzova I.A. et al.* *Colletotrichum coccodes* in potato and tomato leaves in Russia. *J. Plant Diseases and Protection.* 2018. V. 125 (3). P. 311–317. <https://doi.org/10.1007/S41348-017-0138-0>
- Bensch K., Braun U., Groenewald J.Z. et al.* The genus *Cladosporium*. *Stud. Mycol.* 2012. V. 72. P. 1–401. <https://doi.org/10.3114/sim0003>
- Bensch K., Groenewald J.Z., Braun U. et al.* Common but different: The expanding realm of *Cladosporium*. *Stud. Mycol.* 2015. V. 82. P. 23–74. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.10.001>
- Bonifaz A., Tirado-Sánchez A.* Cutaneous disseminated and extracutaneous sporotrichosis: Current status of a complex disease. *J. Fungi.* 2017. V. 3 (1). <https://doi.org/10.3390/jof3010006>
- Brewer M.T., Larkin R.P.* Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection.* 2005. V. 24 (11). P. 939–950. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.01.012>
- Chen Q., Jiang J.R., Zhang G.Z. et al.* Resolving the *Phoma* enigma. *Stud. Mycol.* 2015. V. 82. P. 137–217. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.10.003>
- Chudinova E.M., Elansky S.N.* First report of *Septotinia populiperda* on potato tubers in Russia. *J. Plant Pathol.* 2021. V. 103 (2). P. 665. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00751-2>
- Chudinova E.M., Kokaeva L.Yu., Elansky S.N. et al.* The occurrence of thiabendazole-resistant isolates of *Helminthosporium solani* on potato seed tubers in Russia. *J. Plant Diseases and Protection.* 2020. V. 127 (3). P. 421–423. <https://doi.org/10.1007/S41348-020-00313-1>
- Chudinova E.M., Vedmedenko D.V., Platonov V.A. et al.* First report of potato tuber disease caused by *Acrostalagmus luteoalbus*. *J. Plant Pathology.* 2022. V. 104 (3). <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01173-4>
- Chudinova E., Platonov V., Elansky S. et al.* First report of *Ilyonectria crassa* on potato. *J. Plant Pathology.* 2019. V. 101 (4). P. 1293–1294. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00355-x>
- Costa D., Tavares R.M., Baptista P. et al.* Cork oak endophytic fungi as potential biocontrol agents against *Biscogniauxia mediterranea* and *Diplodia corticola*. *Journal of Fungi.* 2020. V. 6 (4). P. 287. <https://doi.org/10.3390/jof6040287>

- Crous P.W., Verkley G.J., Groenewald J.Z. et al. Fungal Biodiversity. CBS laboratory manual series 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Westerdijk, 2009.
- Diemrci E., Dane E., Eken C. In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. Turkish J. Biol. 2011. V. 35 (4). P. 457–462.  
https://doi.org/10.3906/biy-1004-98
- Domsch K.H., Anderson T.-H., Gams W. et al. Compendium of soil fungi IHW Verlag, 2006.
- Duellman K.M., Lent M.A., Brown L. et al. First report of rubbery rot of potato caused by *Geotrichum candidum* in the United States. Plant Disease. 2021. V. 105 (4). P. 1206.  
https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1815-PDN
- Elansky S.N., Pobedinskaya M.A., Kokaeva L.Yu. et al. *Phytophthora infestans* populations from the European part of Russia: Genotypic structure and metalaxyl resistance. J. Plant Pathology. 2015. V. 97 (3). P. 449–456.  
https://doi.org/10.4454/JPP.V97I3.020
- Elansky S.N., Chudinova E.M., Elansky A.S. et al. Microorganisms in spent water-miscible metalworking fluids as a resource of strains for their disposal. J. Cleaner Production. 2022. V. 350. P. 131438.  
https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131438
- Estrada R., Gudmestad N.C., Rivera V.V. et al. *Fusarium graminearum* as a dry rot pathogen of potato in the USA: Prevalence, comparison of host isolate aggressiveness and factors affecting aetiology. Plant Pathology. 2010. V. 59 (6). P. 1114–1120.  
https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02343.x
- Fajolu O.L., Vu A.L., Dee M.M. et al. First report of leaf spot and necrotic roots on switchgrass caused by *Curvularia lunata* var. *aeria* in the United States. Plant Disease. 2012. V. 96 (9). P. 1372–1372.  
https://doi.org/10.1094/pdis-09-11-0772-pdn
- Feng X., Li S.-P., Lu Y.-F. et al. *Bjerkandera adusta* M1 inhibits the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* and *Fusarium* wilt incidence in *Brassica napus* L. J. Plant Pathology. 2021. V. 103 (2). P. 483–491.  
https://doi.org/10.1007/s42161-021-00753-0
- Fiers M., Chatot C., Edel-Hermann V. et al. Diversity of microorganisms associated with atypical superficial blemishes of potato tubers and pathogenicity assessment. Eur. J. Plant Pathology. 2010. V. 128 (3). P. 353–371.  
https://doi.org/10.1007/s10658-010-9657-2
- Fiers M., Edel-Hermann V., Chatot C. et al. Potato soil-borne diseases. A review. Agronomy for Sustainable Development. 2012. V. 32 (1). P. 93–132.  
https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z
- Fu Y., Li C., Zhu J. et al. A new meroterpenoid from endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* CS-O-1. Biochemical Systematics and Ecology. 2020. V. 93.  
https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104186
- García-Ávila C.D.J., Valenzuela-Tirado G.A., Florencio-Anastasio J.G.G. et al. Organismos asociados a daños en tubérculos de papa en postcosecha. Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology. 2018. V. 36 (2).  
https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1801-1
- Gardes M., Bruns T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology. 1993. V. 2 (2). P. 113–118.  
https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x
- Gargas A., Trest M.T., Christensen M. et al. *Geomyces destructans* sp. nov. associated with bat white-nose syndrome. Mycotaxon. 2009. V. 108 (1). P. 147–154.  
https://doi.org/10.5248/108.147
- Gherbawy Y.A., Gashgari R.M. Mycobiota associated with superficial blemishes of potato tubers. Food Biotechnol. 2013. V. 27 (2). P. 137–151.  
https://doi.org/10.1080/08905436.2013.781947
- Ghosh Y., Azizi R., Poursafar A. New species of synnematosus fungi for Iran mycobiota. J. Plant Research (Iranian Journal of Biology). 2020. V. 33 (4). P. 998–1009.  
https://plant.ijbio.ir/article\_1654.html
- Giraldo A., Crous P.W. Inside *Plectosphaerellaceae*. Stud. Mycol. 2019. V. 92. P. 227–286.  
https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.10.005
- Goonasekara I.D., Bulgakov T., Jayawardena R.S. *Pyrenophora trichostoma* (Pleosporaceae, Pleosporales): an overview of the species and first record on *Bromopsis inermis* from Russia. Plant Pathol. Quarantine. 2020. V. 10 (1). P. 133–143.  
https://doi.org/10.5943/ppq/10/1/15
- Gräfenhan T., Schroers H.J., Nirenberg H.I. et al. An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. Stud. Mycol. 2011. V. 68. P. 79–113.  
https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.04
- Groenewald J.Z., Nakashima C., Nishikawa J. et al. Species concepts in *Cercospora*: Spotting the weeds among the roses. Stud. Mycol. 2013. V. 75 (1). P. 115–170.  
https://doi.org/10.3114/sim0012
- Guler P., Akata I., Kutluer F. Antifungal activities of *Fomitopsis pinicola* (Sw.: Fr.) Karst and *Lactarius vellereus* (Pers.) Fr. African Journal of Biotechnology. 2009. V. 8 (16). P. 3811–3813.  
http://www.academicjournals.org/AJB
- Houbraken J., Due M., Varga J. et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Usti*. Stud. Mycol. 2007. V. 59. P. 107–128.  
https://doi.org/10.3114/sim.2007.59.12
- Houbraken J., Kocsubé S., Visagie C.M. et al. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. Stud. Mycol. 2020. V. 95. P. 5–169.  
https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.002
- Houbraken J., Samson R.A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. Stud. Mycol. 2011. V. 70. P. 1–51.  
https://doi.org/10.3114/sim.2011.70.01
- Istifanus M.F., Ogbonna A.I., Sila M.D. et al. Species of microorganisms associated with decayed tubers of Irish potato in storage in Plateau State, Nigeria. IOSR J. Environmental Science, Toxicology and Food Technology. 2014. V. 8 (12). P. 54–57.  
https://doi.org/10.9790/2402-081215457
- Jaber S., Mercier A., Knio K. et al. Isolation of fungi from dead arthropods and identification of a new mosquito natural pathogen. Parasites and Vectors. 2016. V. 9 (1). P. 1–10.  
https://doi.org/10.1186/s13071-016-1763-3

- Jaklitsch W.M., Voglmayr H.* Biodiversity of *Trichoderma* (*Hypocreaceae*) in Southern Europe and Macaronesia. *Stud. Mycol.* 2015. V. 80. P. 1–87.  
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.11.001>
- Kapsa J.S.* Important threats in potato production and integrated pathogen/pest management. *Potato Research.* 2008. V. 51 (3–4). P. 385–401.  
<https://doi.org/10.1007/s11540-008-9114-1>
- Knight N.L., Vaghefi N., Kikkert J.R. et al.* Alternative hosts of *Cercospora beticola* in field surveys and inoculation trials. *Plant Disease.* 2019. V. 103 (8). P. 1983–1990.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0229-RE>
- Kokaeva L.Yu., Yarmeeva M.M., Kokaeva Z.G. et al.* Phylogenetic study of *Alternaria* potato and tomato pathogens in Russia. *Diversity.* 2022. V. 14. P. 685.  
<https://doi.org/10.3390/d14080685>
- Kokaeva L.Yu., Belosokhov A.F., Doeva L.Yu. et al.* Distribution of *Alternaria* species on blighted potato and tomato leaves in Russia. *J. Plant Diseases and Protection.* 2018. V. 125 (2). P. 205–212.  
<https://doi.org/10.1007/S41348-017-0135-3>
- Kokaeva L.Yu., Elansky S.N.* First report of *Alternaria alternariacida* causing potato leaf blight in the Far East, Russia. *Plant Disease.* 2022.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0291-PDN>
- Kumar V.B., Perween F., Sinha A. et al.* Mycoflora of potato (*Solanum tuberosum* L.) slices and their succession. *International J. Environmental Sciences.* 2014. V. 4 (5). P. 937–944.  
<https://doi.org/10.6088/ijes.2014040404532>
- Kutuzova I.A., Kokaeva L.Yu., Pobendinskaya M.A. et al.* Resistance of *Helminthosporium solani* strains to selected fungicides applied for tuber treatment. *J. Plant Pathology.* 2017. V. 99 (3). P. 635–642.  
<https://doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3950>
- Larkin R.P., Fravel D.R.* Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease.* 1998. V. 82 (9). P. 1022–1028.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.9.1022>
- Larsen M.J., Jurgensen M.F., Harvey A.E.* *Athelia epiphylla* associated with colonization of subalpine fir foliage under psychrophilic conditions. *Mycologia.* 1981. V. 73 (6). P. 1195–1202.  
<https://doi.org/10.1080/00275514.1981.12021456>
- Lewis J.A., Papaviza G.C.* *Stilbella aciculosa*: A potential biocontrol fungus against *Rhizoctonia solani*. *Biocontrol Science and Technology.* 1993. V. 3 (1). P. 3–11.  
<https://doi.org/10.1080/09583159309355253>
- Li Y., Xia L.Q., Wang Y.N. et al.* The inhibitory effect of *Epicoecium nigrum* strain XF1 against *Phytophthora infestans*. *Biological Control.* 2013. V. 67 (3). P. 462–468.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.007>
- Liu N., Jiang S., Feng S. et al.* A duplex PCR assay for rapid detection of *Phytophthora nicotianae* and *Thielaviopsis basicola*. *Plant Pathology Journal.* 2019. V. 35 (2). P. 172–177.  
<https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2018.0173>
- Liu S., Han M.L., Xu T.M. et al.* Taxonomy and Phylogeny of the *Fomitopsis pinicola* complex with descriptions of six new species from East Asia. *Frontiers in Microbiology.* 2021. V. 12.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.644979>
- Liu T.T., Hu D.M., Liu F. et al.* Polyphasic characterization of *Plectosphaerella oligotrophica*, a new oligotrophic species from China. *Mycoscience.* 2013. V. 54 (5). P. 387–393.  
<https://doi.org/10.1016/j.myc.2013.01.003>
- Loit K.* Pathogenic and arbuscular mycorrhizal fungi in potato fields in Estonia [Eesti Maaülikool]. Tartu, 2021.  
<https://dspace.emu.ee/handle/10492/6788>
- Majchrzak B., Okorski A., Chodorowski B.* Fungi isolated from the rhizosphere of spring cruciferous plants. *Acta Mycologica.* 2013. V. 43 (2). P. 181–191.  
<https://doi.org/10.5586/am.2008.023>
- Manici L.M., Caputo F.* Fungal community diversity and soil health in intensive potato cropping systems of the east Po valley, northern Italy. *Ann. Appl. Biology.* 2009. V. 155 (2). P. 245–258.  
<https://doi.org/10.1111/J.1744-7348.2009.00335.X>
- Martino J.A., Feo L., V. Di et al.* First report of *Berkeleyomyces basicola* (synonymous: *Thielaviopsis basicola*) on roots of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] in Argentina. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo.* 2021. V. 53 (1). P. 283–287.  
<https://doi.org/10.48162/rev.39.027>
- Mazzola M., Freilich S.* Prospects for biological soilborne disease control: application of indigenous versus synthetic microbiomes. *Phytopathology.* 2017. V. 107 (3). P. 256–263.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-16-0330-RVW>
- Miller A.N., Huhndorf S.M.* Multi-gene phylogenies indicate ascomal wall morphology is a better predictor of phylogenetic relationships than ascospore morphology in the *Sordariales* (*Ascomycota*, *Fungi*). *Molec. Phylogenetics and Evolution.* 2005. V. 35 (1). P. 60–75.  
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.01.007>
- Mongkolsamrit S., Khonsanit A., Thanakitpipattana D. et al.* Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. *Stud. Mycol.* 2020. V. 95. P. 171–251.  
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.04.001>
- Nakashima K., Tomida J., Hirai T. et al.* Sesquiterpenes with new carbon skeletons from the basidiomycete *Phlebia tremellosa*. *J. Natural Medicines.* 2019. V. 73 (3). P. 480–486.  
<https://doi.org/10.1007/s11418-019-01286-8>
- Nel W.J., Duong T.A., Wingfield B.D. et al.* A new genus and species for the globally important, multihost root pathogen *Thielaviopsis basicola*. *Plant Pathology.* 2018. V. 67 (4). P. 871–882.  
<https://doi.org/10.1111/ppa.12803>
- Nishikawa J., Nakashima C.* Taxonomic characterization and experimental host ranges of four newly recorded species of *Alternaria* from Japan. *J. Phytopathology.* 2013. V. 161 (9). P. 604–616.  
<https://doi.org/10.1111/jph.12108>
- O'Donnell K., Cigelnik E.* Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molec. Phylogenetics and Evolution.* 1997. V. 7 (1). P. 103–116.  
<https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0376>
- Oliveira dos Santos M.V., Silva de Araújo D.C., Ribeiro Santos T. et al.* Identificação de potenciais agentes fúngicos biocontroladores de *Phytophthora* spp. *Agrotrópica* (Itabuna). 2014. V. 26 (3). P. 185–196.  
<https://doi.org/10.21757/0103-3816.2014v26n3p185-196>

- Ouchi T., Watanabe Y., Nonaka K. et al. Clonocoprogens A, B and C, new antimalarial coprogens from the Okinawan fungus *Clonostachys compactiuscula* FKR-0021. *J. Antibiotics*. 2020. V. 73 (6). P. 365–371. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0292-7>
- Peng L., Huang J. Mobilisation of unavailable phosphorus and improvement of pepper P absorption, fruit yield and quality by the wood rot-fungus *Fomitopsis palustris* CQ2018. *Soil Research*. 2022. <https://doi.org/10.1071/SR21233>
- Poluektova E.V., Berestetskiy A.O., Kutuzova I.A. et al. Biological properties and susceptibility to fungicides of *Colletotrichum coccodes* strains of different geographic origin. *Problemy agrokhimii i ekologii*. 2021. V. 3–4. P. 45–54 (in Russ.). <https://doi.org/10.26178/7385.2021.11.17.009>
- Qi H., Lu G., Li Z. et al. Identification and pathogenicity of *Alternaria* leaf blight strains in silage maize in Qinghai Province. *Acta Prataculturae Sinica*. 2021. V. 30 (6). P. 94. <https://doi.org/10.11686/CYXB2020448>
- Ramarajan R., Manohar C.S. Biological pretreatment and bioconversion of agricultural wastes, using ligninolytic and cellulolytic fungal consortia. *Bioremediation J*. 2017. V. 21 (2). P. 89–99. <https://doi.org/10.1080/10889868.2017.1282937>
- Ramires F.A., Masiello M., Somma S. et al. Phylogeny and mycotoxin characterization of *Alternaria* species isolated from wheat grown in Tuscany, Italy. *Toxins*. 2018. V. 10 (11). P. 472. <https://doi.org/10.3390/toxins10110472>
- Ray R.C., Byju G. Root surface culturable microflora associated with post harvest spoilage of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Advances in Horticultural Science*. 2003. V. 17 (3). P. 176–180. <http://www.jstor.org/stable/42882248>
- Samson R.A., Peterson S.W., Frisvad J.C. et al. New species in *Aspergillus* section *Terrei*. *Stud. Mycol.* 2011. V. 69. P. 39–55. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.69.04>
- Samson R.A., Seifert K.A., Kuijpers A.F.A. et al. Phylogenetic analysis of *Penicillium* subgenus *Penicillium* using partial  $\beta$ -tubulin sequences. *Stud. Mycol.* 2004. V. 2004 (49). P. 175–200.
- Sandoval-Denis M., Guarro J., Cano-Lira J.F. et al. Phylogeny and taxonomic revision of *Microascaceae* with emphasis on synnematous fungi. *Stud. Mycol.* 2016. V. 83. P. 193–233. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.07.002>
- Schroers H.-J.J. A monograph of *Bionectria* (*Ascomycota*, *Hypocreales*, *Bionectriaceae*) and its *Clonostachys* anamorphs. *Stud. Mycol.* 2001. V. 46. P. 1–215.
- Shanthiyaa V., Saravanakumar D., Rajendran L. et al. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. *Crop Protection*. 2013. V. 52. P. 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.05.006>
- Sharma G., Pandey R.R. Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *J. Yeast Fungal Res.* 2010. V. 1 (8). P. 157–164. <http://www.academicjournals.org/JYFR>
- Simmons E.G. *Alternaria: An identification manual: Fully illustrated and with catalogue raisonné* CBS Fungal Biodiversity Centre, 2007. [http://books.google.com.mx/books?id=F\\_AzKgAACAAJ](http://books.google.com.mx/books?id=F_AzKgAACAAJ)
- Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M. et al. Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland. *Eur. J. Plant Pathology*. 2016. V. 145 (4). P. 871–884. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0875-0>
- Stranska M., Dzman Z., Prusova N. et al. Fungal endophytes of *Vitis vinifera* plant growth promoters or potentially toxinogenic agents? *Toxins*. 2022. V. 14 (2). P. 66. <https://doi.org/10.3390/toxins14020066>
- Summerbell R.C., Gueidan C., Schroers H.-J. et al. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Sacrocladium*, and *Trichothecium*. *Stud. Mycol.* 2011. V. 68. P. 139–162. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.06>
- Sun Y., Wang Q., Lu X. et al. Endophytic fungi associated with two *Suaeda* species growing in alkaline soil in China. *Mycosphere*. 2011. V. 2 (3). P. 239–248.
- Sung G.H., Sung J.M., Hywel-Jones N.L. et al. A multi-gene phylogeny of *Clavicipitaceae* (*Ascomycota*, *Fungi*): Identification of localized incongruence using a combination bootstrap approach. *Molec. Phylogenetics and Evolution*. 2007. V. 44 (3). P. 1204–1223. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.03.011>
- Tabuchi A., Fukushima-Sakuno E., Osaki-Oka K. et al. Productivity and bioactivity of enokipodins A–D of *Flammulina rossica* and *Flammulina velutipes*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2020. V. 84 (5). P. 876–886. <https://doi.org/10.1080/09168451.2020.1714421>
- Thambugala K.M., Wanasinghe D.N., Phillips A.J.L. et al. Mycosphere notes 1–50: grass (*Poaceae*) inhabiting *Dothideomycetes*. *Mycosphere*. 2017. V. 8 (4). P. 697–796. <https://doi.org/10.5943/MYCOSPHERE/8/4/13>
- Tiwari R.K., Kumar R., Sharma S. et al. Continuous and emerging challenges of silver scurf disease in potato. *Int. J. Pest Management*. 2020. P. 1–13. <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1795302>
- Villanueva-Lozano H., Treviño-Rangel R. de J., Renpenning-Carrasco E.W. et al. Successful treatment of *Talaromyces amestolkiae* pulmonary infection with voriconazole in an acute lymphoblastic leukemia patient. *J. Infection and Chemotherapy*. 2017. V. 23 (6). P. 400–402. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.12.017>
- Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud. Mycol.* 2014. V. 78 (1). P. 343–371. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
- Walther D., Gindrat D. Biological control of damping-off of sugar-beet and cotton with *Chaetomium globosum* or a fluorescent *Pseudomonas* sp. *Can. J. Microbiol.* 1988. V. 34 (5). P. 631–637. <https://doi.org/10.1139/m88-104>
- Wang X.W., Houbraken J., Groenewald J.Z. et al. Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and *Chaetomium-like* fungi from indoor environments. *Stud. Mycol.* 2016. V. 84. P. 145–224. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.005>
- Wang X.W., Yang F.Y., Meijer M. et al. Redefining *Humicola* sensu stricto and related genera in the Chaetomiaceae. *Stud. Mycol.* 2019. V. 93 (1). P. 65–153. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.07.001>

- White T., 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.
- World potato production by country. 2022. <https://www.atlasbig.com/en-us/countries-potato-production>. Accessed 21.03.2022.
- Yamagishi N., Nishikawa J., Oshima Y. et al. Black spot disease of alstroemeria caused by *Alternaria alstroemeriae* in Japan. J. General Plant Pathology. 2009. V. 75 (5). P. 401–403. <https://doi.org/10.1007/s10327-009-0182-0>
- Yang S.-M. Pathogenicity of *Alternaria angustiovoidea* on leafy spurge. Plant Disease. 1990. V. 74 (8). P. 601. <https://doi.org/10.1094/PD-74-0601>
- Yang Y., Fang B., Feng S. et al. Isolation and identification of *Trichoderma asperellum*, the novel causal agent of green mold disease in sweetpotato. Plant Disease. 2021. P. PDIS-07-20-1484. <https://doi.org/10.1094/pdis-07-20-1484-re>
- Yarmeeva M.M., Kokaeva L. Yu., Chudinova E.M. et al. Anastomosis groups and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* strains isolated from potato in Russia. J. Plant Diseases and Protection. 2021. V. 128 (5). P. 1253–1261. <https://doi.org/10.1007/S41348-021-00490-7/FIGURES/3>
- Yilmaz N., Houbraeken J., Hoekstra E.S. et al. Delimitation and characterisation of *Talaromyces purpurogenus* and related species. Persoonia. 2012. V. 29. P. 39–54. <https://doi.org/10.3767/003158512X659500>
- Zare R., Gams W. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. Nova Hedwigia. 2000. V. 71 (1–2). P. 1–50. <https://doi.org/10.1127/nova.hedwigia/71/2001/1>
- Zhou W., Verma V.C., Wheeler T.A. et al. Tapping into the cotton fungal phytobiome for novel nematode biological control tools. Phytobiomes Journal. 2020. V. 4 (1). P. 18–26. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-08-19-0043-SC>
- Zimudzi J., van der Waals J.E., Coutinho T.A. et al. Temporal shifts of fungal communities in the rhizosphere and on tubers in potato fields. Fungal Biology. 2018. V. 122 (9). P. 928–934. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.05.008>
- Полуэктова Е.В., Берестецкий А.О., Кутузова И.А. и др. (Poluektova et al.) Биологические свойства и чувствительность к фунгицидам штаммов *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S. Hughes различного географического происхождения // Проблемы агрохимии и экологии. 2021. № 3–4. С. 45–54.

## Fungal Biodiversity of Potato Tubers

A. F. Belosokhov<sup>#</sup>, M. M. Yarmeeva<sup>a,##</sup>, S. M. Mislavsky<sup>b,###</sup>, M. L. Kurchaev<sup>b,####</sup>, A. M. Dolgov<sup>a,#####</sup>, G. P. Albantov<sup>b,#####</sup>, D. N. Skokov<sup>b,#####</sup>, A. A. Tsindeliani<sup>b,#####</sup>, L. Yu. Kokaeva<sup>a,b,#####</sup>, E. M. Chudinova<sup>b,#####</sup>, and S. N. Elansky<sup>a,b,#####</sup>

<sup>a</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>b</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>#</sup>e-mail: arsenybelosokhov.msu.bios@gmail.com

<sup>##</sup>e-mail: yarmeeva.maria.2014@post.bio.msu.ru

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

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

<sup>#####</sup>e-mail: adolgov31@yandex.ru

<sup>#####</sup>e-mail: albantov99@mail.ru

<sup>#####</sup>e-mail: 1032193187@rudn.ru

<sup>#####</sup>e-mail: archil7876@yandex.ru

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

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

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

The paper presents information on strains of 53 species of fungi isolated from potato tubers. Samples of affected and healthy potato tubers were collected in various regions of Russia (Astrakhan, Bryansk, Vladimir, Voronezh, Irkutsk, Kaluga, Kostroma, Magadan, Moscow, Tambov, Tula, Kamchatka, and Krasnodar regions; Republics of Adygea, Crimea, Mari El, Sakha-Yakutia) between 2014 and 2022. 36 species presented in the work are new and have not been previously found on tubers. Among them, there are both phytopathogens and species that can be used as potential biocontrol agents (competitive saprotrophs, mycotrophs). Species known as endophytes have been found, as well as poorly studied species whose role on tubers remains unknown. The work does not include well-known potato pathogens, new species, information about which was previously published by the authors, as well as a variety of *Fusarium* spp. fungi, on which separate publications are being prepared. The study shows the complex diversity of fungi in the composition of the potato microbiota, which indicates the need for a thorough analysis of the microbiota in the development and application of tuber protection systems.

**Key words:** biodiversity, pathogens, potato growing, saprotrophs, tuber protection

УДК 632.937

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА *METARHIZIUM ROBERTSII* ПРОТИВ РИЗОКТОНИОЗА КАРТОФЕЛЯ

© 2023 г. Е. М. Шалдыева<sup>1,2,\*</sup>, Ю. В. Пилипова<sup>2,\*\*</sup>, О. Г. Томилова<sup>1,3,\*\*\*</sup>, В. В. Глупов<sup>1,\*\*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, 630091 Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, 630039 Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: elenashaldyaeva@mail.ru

\*\*e-mail: pyuv260565@mail.ru

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

\*\*\*\*e-mail: skif61@list.ru

Поступила в редакцию 12.03.2022 г.

После доработки 15.06.2022 г.

Принята к публикации 22.11.2022 г.

Впервые в Западной Сибири проведены производственные испытания экспериментального прототипа препарата на основе энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii*. Показана его способность существенно сдерживать развитие ризоктониоза картофеля на протяжении всего периода вегетации. Установлено достоверное снижение гибели ростков и развития ризоктониоза на стеблях в сравнении с контролем и химическим протравителем. На участке с применением *M. robertsii* отмечено существенное увеличение количества здоровых клубней (в 2.5 раза), количество клубней со склероциями уменьшилось в 2.8 раза по сравнению с контролем. Эффективность применения *M. robertsii* в подавлении ризоктониоза была высокой на всех этапах онтогенеза картофеля и составляла 52–84%. В лабораторных экспериментах в присутствии *M. robertsii* установлено достоверное ингибирование формирования склероциев *Rhizoctonia solani* на клубнях, снижение их жизнеспособности и размера.

**Ключевые слова:** биологическая эффективность, пораженность, ризоктониеподобные грибы, энтомопатогены

DOI: 10.31857/S0026364823020095, EDN: NJCLEU

### ВВЕДЕНИЕ

Фитопатогенный гриб *Rhizoctonia solani* Kuhn регистрируется во многих типах почв и вызывает на картофеле комплексное заболевание, проявляющееся в форме сухой язвенной гнили ростков, стеблей и столонов, что приводит к изреживанию, задержке и выпадом всходов этой культуры (Baker, 1970; Carling, Leiner, Westphale, 1989; Wilson et al., 2008). На клубнях картофеля симптомы болезни также многообразны: склероции, углубленная пятнистость и сетчатый некроз, которые приводят к снижению качества и урожайности культуры во всех зонах возделывания. В Западной и Восточной Сибири потери урожая от ризоктониоза достигают 30–45%. Поражение картофеля ризоктониозом в условиях резко континентального климата региона может достигать максимально 67–70.8% при распространенности заболевания на уровне 80–100%, а заселенность клубней склероциями достигает 56.2% (Shaldyaeva et al., 2006; Tsgor, 2010).

Перспективное направление в защите картофеля от заболевания – использование препаратов

на основе биологических агентов, в первую очередь микроорганизмов, часто обладающих полифункциональным действием. Они стимулируют рост и развитие растений, их устойчивость к абиотическим стрессам и вредным организмам. Использование биопрепаратов на основе микроорганизмов приобретает в современных условиях большое значение и инициирует активный поиск новых, более эффективных штаммов микроорганизмов для подавления патогенов. Появляется все больше доказательств того, что применение микроорганизмов, колонизирующих ризосферу и сами растения (например, бактерии *Pseudomonas* и *Bacillus*, грибы арбускулярной микоризы и грибы-эндофиты), имеет высокий потенциал в качестве средств биологической защиты от фитопатогенов, позволяющих снижать заболеваемость и стимулировать рост растений (Wilson et al., 2008). Установлено, что энтомопатогенные грибы *Metarhizium* и *Beauveria* находятся в мутуалистических взаимоотношениях с растениями, выступая поставщиками азота, производителями вторичных метаболитов, промоторами роста, антагонистами грибных

и вирусных фитопатогенов (Vega, 2018) и могут быть использованы в качестве микопестицидов с перспективой долгосрочной замены синтетических пестицидов (Lednev et al., 2019).

Так, подавление фитопатогенных грибов после обработки растений различными видами грибов родов *Metarhizium* и *Beauveria* было показано в следующих системах: *Pythium myriotylum* и *Rhizoctonia solani* – растения томатов и хлопчатника (Ownley et al., 2008), *Fusarium oxysporum* – лук (Flori, Roberti, 1993), мучнистая роса – огурец (Kim et al., 2010), вирус желтой мозаики – тыква (Jaber, Salem, 2014).

Аскомицет *Metarhizium robertsii* является одним из наиболее распространенных в почве видов энтомопатогенных грибов, поражающий насекомых разных отрядов. Жизненный цикл этого гриба как факультативного сапротрофа включает разные стадии: патогенную, проходящую на насекомых, и покоящуюся, когда конидии гриба попадают во внешнюю среду (почва, различные части растений и др.). Исследования (Hu, Leger, 2002; Bruck, 2010) показали, что на последней стадии гриб способен к колонизации растений и размножению в их ризосфере. Являясь известными энтомопатогенами, в лабораторных условиях грибы рода *Metarhizium* (*M. robertsii*, *M. anisopliae*) подавляли фитопатогенные организмы родов *Pythium*, *Fusarium* и *Rhizoctonia* (Ownley et al., 2010; Sasan, Vidochka, 2013). Проведенные нами предварительные полевые испытания *Metarhizium robertsii* в борьбе с ризоктониозом показали (Tomilova et al., 2020), что предпосадочная обработка клубней картофеля конидиями гриба сдерживает развитие ризоктониоза картофеля в период вегетации в условиях Западной Сибири.

Целью данного исследования было изучение эффективности применения прототипа препарата на основе конидий *M. robertsii* против ризоктониоза в производственных агроэкосистемах картофеля лесостепи Приобья.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные исследования проводили на базе Института систематики и экологии животных СО РАН и Новосибирского ГАУ. Производственные испытания проведены в ЗАО “Приобское” Новосибирской области (2021 г.). Объектами исследований являлись сорт картофеля Ред Скарлет, штамм энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii* (изолят Р-72) и возбудитель ризоктониоза *Rhizoctonia solani*.

В работе использован энтомопатогенный гриб *Metarhizium robertsii* (штамм Р-72) из коллекции микроорганизмов Института систематики и экологии животных СО РАН Российской академии наук. Штамм выделен из погибших личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say на территории Латвии в 1972 г. (Serebrov et al., 2007). Ви-

довая идентификация гриба проведена на основе секвенирования региона гена фактора элонгации EF1 $\alpha$  (Kryukov et al., 2017).

В лабораторных условиях проводили оценку антагонистической активности *Metarhizium robertsii* в отношении фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani* по методике совместного культивирования (Sobowale et al., 2010) на картофельно-глюкозном агаре (КГА). Агаровые блоки (диаметр 10 мм) с пятидневной культурой *Metarhizium robertsii* размещали на расстоянии 3 см от края чашек Петри (диаметр 90 мм). Через 2 сут на противоположную сторону чашек Петри помещали аналогичные блоки *Rhizoctonia solani*. Контроль содержал только *R. solani*. Чашки инкубировали при 25°C в темноте. Ингибирование формирования склероциев оценивали по плотности мицелиальных зачатков склероциев при одиночном росте фитопатогена и его совместном культивировании с *M. robertsii* с фиксацией параметров на 10, 20 и 50-е сут. Плотность мицелия оценивали по интенсивности окраски с помощью программы ImageJ (Abramoff et al., 2004). Эксперимент проводили дважды в шести повторностях.

Производственные испытания прототипа препарата на основе конидий *Metarhizium robertsii* проводили в ЗАО “Приобское” Новосибирской обл. на участке производства семенного картофеля.

Производственный эксперимент включал три варианта: 1) обработку клубней водой (контроль); 2) обработку клубней грибом *M. robertsii*; 3) обработку клубней химическим препаратом Эместо квантум (эталон).

Обработку клубней картофеля сорта Ред Скарлет конидиями *M. robertsii* проводили непосредственно перед посадкой. Использовали малообъемное опрыскивание клубней в производственных контейнерах (расход экспериментального прототипа препарата с титром  $5 \times 10^9$  конидий/г составил 0.6 кг/т, расход рабочей суспензии – 12 л/т клубней), в контрольном варианте проводили обработку водой (12 л/т), обработку системным инсекто-фунгицидным препаратом Эместо квантум осуществляли в рекомендованной дозе 0.3 л/т с расходом рабочей жидкости 12 л/т. Площадь каждой делянки – 0.5 га. Посадку осуществляли 14.05.2021 механизированным способом с использованием картофелесажалки Grimme GL 34 KG. Посадку клубней проводили на глубину 6–8 см, схема посадки 75 × 20 см. Фрезерование гребней осуществляли Grimme GF 75-4 через 5 сут после посадки для создания прочного рыхлого гребня вокруг клубня.

Перед закладкой эксперимента провели анализ заселенности почвы грибом *Rhizoctonia solani* методом множественных почвенных таблеток (Henis et al., 1978) с использованием селективной среды (Ko and Hora, 1971). Согласно этому методу, почву просеивали через сито с мешом 2 мм и хранили в

картонных коробках. Непосредственно перед работой уровень влажности почвы доводили до 18–22%. Почву запрессовывали в трубки пробоотборника и выкладывали почвенные таблетки (по 15 шт.) на агаризованную среду в чашки Петри в 10-кратной повторности на вариант. Средняя масса таблеток  $104\text{--}115 \pm 1.77$  мг. Чашки с таблетками инкубировали при  $20\text{--}24^\circ\text{C}$  в течение 18–24 ч и просматривали визуально и под микроскопом на присутствие типичного мицелия *R. solani*.

Пораженность картофеля ризоктониозом учитывали в два этапа (первый учет 15.06.2021 – через пять недель после посадки, фаза всходов; второй учет 08.07.2021 – через семь недель после посадки, фаза бутонизации–цветения). Анализировали по 15 растений в четырехкратной повторности (60 растений на вариант) по методике Франка (Frank, Leach, Webb, 1976) по следующей шкале: 0 баллов – нет поражений; 1 балл – наличие одного поражения длиной менее 25 мм; 2 балла – одно поражение длиной 26–50 мм или несколько мелких поражений длиной менее 50 мм; 3 балла – одно или несколько поражений более 50 мм, но не околовывающих стебель; 4 балла – одно или несколько поражений менее 25 мм, околовывающих стебель; 5 баллов – одно или несколько поражений длиной более 25 мм, околовывающих стебель.

Для каждого растения рассчитывали индекс развития болезни по общепринятой формуле путем суммирования произведений количества стеблей (ростков) на соответствующий балл шкалы и деления на произведение суммы количества стеблей на высший балл шкалы, выраженное в процентах.

На том же материале определяли процент погибших ростков, а также опавших и поврежденных столонов от общего их числа.

Оценку пораженности клубней ризоктониозом проводили с определением склероциального индекса (Shaldyaeva, Pilipova, 1999) по вариантам опыта (урожай с 25 растений в четырехкратной повторности). Склероциальный индекс подсчитывали по формуле:  $Si = (hy + 3.5l + 5m + 6h) / (c + hy + l + m + h)$ , где  $c$ ,  $hy$ ,  $l$ ,  $m$ ,  $h$  – масса клубней;  $c$  – клубни, свободные от ризоктониоза;  $hy$  – клубни с мицелиальной формой (в форме сетчатого некроза, углубленной пятнистости);  $l$  – клубни поражены в слабой степени (склероции от единичных и занимающих 10% поверхности клубня);  $m$  – клубни поражены в средней степени (склероции занимают 25% поверхности клубня);  $h$  – клубни поражены в сильной степени (склероции занимают 50% и более поверхности клубня); 3.5, 5, 6 – цифровые коэффициенты формулы, отражающие степень вредоносности отдельных форм проявления ризоктониоза.

В процессе анализа образцов картофеля клубни (не менее 100 шт. на повторность) распределяли по группам ( $c$ ,  $hy$ ,  $l$ ,  $m$ ,  $h$ ), а затем каждую из них

взвешивали по отдельности и их массу использовали для подсчета склероциального индекса.

Изучение жизнеспособности склероциев с клубней нового урожая проводили на картофельно-глюкозном агаре (КГА), помещая пять склероциев в чашку Петри по вариантам производственного опыта (контроль, *Metarhizium robertsii* химический эталон) в 10-кратной повторности. Склероции отделяли с 50 клубней среднего образца из четырех повторностей. Чашки инкубировали при  $22\text{--}24^\circ\text{C}$  в темноте в течение 5 сут. Жизнеспособность возбудителя оценивали по количеству проросших склероциев и диаметру колоний.

Анализ данных проводили с использованием Statistica 8 (StatSoft Inc., США) и PAST 3 (Hammer et al., 2001). Нормально распределенные данные были проанализированы с помощью однофакторной ANOVA с последующим тестом Тьюки, ненормально распределенные данные – с использованием анализа Крускал–Уоллиса с последующим тестом Данна.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Перед закладкой эксперимента был выполнен анализ фитосанитарного состояния почвы и посадочного материала картофеля. Установлено, что уровень почвенной инфекции был ниже порога вредоносности, однако отмечен высокий уровень пораженности клубней ризоктониозом (распространенность форм ризоктониоза на клубнях составляла 78%, склероциальный индекс – 2.24, табл. 2). Таким образом, исследования проводили на высоком естественном инфекционном фоне пораженности ризоктониозом семенного материала.

При оценке выпадов всходов отмечено значительное снижение количества погибших от ризоктониоза ростков после применения *M. robertsii* и в варианте с химическим эталоном, различия достоверны в сравнении с контролем (Тест Данна,  $P = 0.005$ ). В этот же период отмечено существенное снижение индекса развития болезни (ИРБ) на стеблях в 3.8 раза после обработки *M. robertsii* по сравнению с контролем (табл. 1).

В фазу цветения (семь недель) максимальный эффект по снижению ИРБ получен после обработки клубней *M. robertsii*, различия по снижению пораженности стеблей достоверны как по сравнению с контролем, так и с химическим протравителем ( $P \leq 0.0009$ ). Впервые отмечено достоверное снижение количества пораженных (в 3.6 раза) и опавших столонов (в 23 раза) после обработки *M. robertsii* по сравнению с контролем ( $P \leq 0.003$ ). Применение химического эталона обеспечило достоверное снижение только опавших столонов по сравнению с контролем (в 4.4 раза,  $P = 0.004$ ).

Предпосадочная обработка грибом *M. robertsii* положительно влияла на качество клубней нового

**Таблица 1.** Развитие ризоктониоза картофеля на фоне применения *Metarhizium robertsii*, %

Показатели	Контроль	<i>M. robertsii</i>	Химический эталон
Погибшие ростки (15.06)	10.5 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
Развитие болезни на стеблях (15.06)	44.9 <sup>a</sup>	11.9 <sup>b</sup>	20.6 <sup>b</sup>
Развитие болезни на стеблях (08.07)	53.7 <sup>a</sup>	25.9 <sup>b</sup>	50.1 <sup>a</sup>
Поврежденные столоны (08.07)	10.6 <sup>a</sup>	2.95 <sup>b</sup>	6.4 <sup>ab</sup>
Опавшие столоны (08.07)	13.8 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	3.1 <sup>b</sup>

Примечание. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами (однофакторная ANOVA, тест Тьюки,  $P < 0.05$ ).

**Таблица 2.** Влияние *Metarhizium robertsii* на распространенность форм проявления ризоктониоза на клубнях

Показатели	Распространенность форм на посадочных клубнях (%)	Распространенность форм на клубнях нового урожая (%)		
		контроль	<i>M. robertsii</i>	химический эталон
Свободные от ризоктониоза	21.8	20.00 ± 2.31 <sup>a</sup>	49.6 ± 3.40 <sup>b</sup>	33.6 ± 5.67 <sup>b</sup>
Сетчатый некроз	29.6	10.0	25.2	30.7
Склероции всего:	49.2	69.9	25.2	35.8
в том числе:				
единичные	14.8	18	14.9	19.8
на 1/10 поверхности клубня	18.0	32.3	9.3	11.7
на 1/4 поверхности клубня	13.7	14.8	1.0	3.3
на 1/2 поверхности клубня	2.7	4.8	0	1.0
Si (склероциальный индекс)	2.24	2.83 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.16 <sup>b</sup>	1.63 ± 0.27 <sup>b</sup>
Размеры склероциев, мм		3.025 ± 0.46	1.825 ± 0.36	2.70 ± 0.48
Проросшие склероции после периода хранения, %		62	12	57

Примечание. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами (однофакторная ANOVA, тест Тьюки,  $P < 0.05$ ).

урожая. Отмечено существенное увеличение количества здоровых клубней на участке с применением *M. robertsii* как в сравнении с контролем ( $P = 0.002$ ), так и с химическим препаратом ( $P = 0.049$ ). Значения склероциального индекса (Si) как обобщенного показателя пораженности клубней всеми формами ризоктониоза были достоверно ниже контрольных как после химической, так и после обработки грибом ( $P \leq 0.004$ , табл. 2). Установлено, что в варианте с *M. robertsii* количество здоро-

вых клубней увеличилось в 2.5 раза, а количество клубней со склероциями снизилось в 2.8 раза по сравнению с контролем, что в итоге привело к существенному снижению склероциального индекса в 2.4 раза.

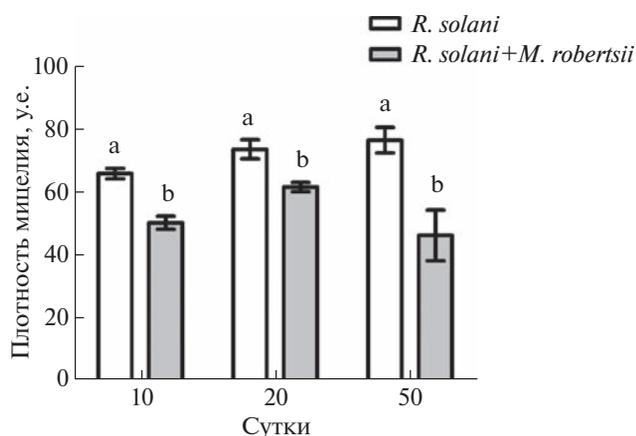
Биологическая эффективность применения *M. robertsii* для снижения ризоктониоза (%) была высокой на всех этапах онтогенеза картофеля и составляла:

на ростках	на стеблях	на столонах	на клубнях	в среднем по растению
73.5	51.8	83.9	58.6	66.9

Кроме того, в лабораторных экспериментах установлено, что применение *M. robertsii* снижало жизнеспособность и размеры склероциев *Rhizoctonia solani*, сформированных на клубнях нового урожая. Так, в контрольном варианте количество проросших склероциев составляло 62%, в то время как после применения *Metarhizium robertsii* только 12% склероциев образовали колонии на

агаре с добавлением антибиотиков, рост гриба был слабым, диаметр колоний в 7 раз меньше контрольных. Размеры склероциев, формирующихся на клубнях после обработки энтомопатогенным грибом, были в 1.65 раза меньше контрольных значений.

Результаты дополнительных лабораторных экспериментов показали, что при совместном



**Рис. 1.** Плотность мицелиальных зачатков склероциев *Rhizoctonia solani* при одиночном росте и совместном культивировании с *Metarhizium robertsii*. Плотность мицелия измерена по интенсивности окраски колонии (под блоком *Rhizoctonia solani*) в программе ImageJ. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами ( $P < 0.05$ , T-тест).

культивировании *M. robertsii* вызывал задержку образования склероциев *Rhizoctonia solani* (рис. 1, 2). При сравнении плотности мицелиальных зачатков склероциев при одиночном росте фитопатогена (рис. 2, а) и его совместном культивировании с *Metarhizium robertsii* (рис. 2, в) установлено достоверное ингибирование формирования склероциев *Rhizoctonia solani* в присутствии *Metarhizium robertsii* на протяжении всего периода наблюдений (T-тест,  $P \leq 0.015$ ).

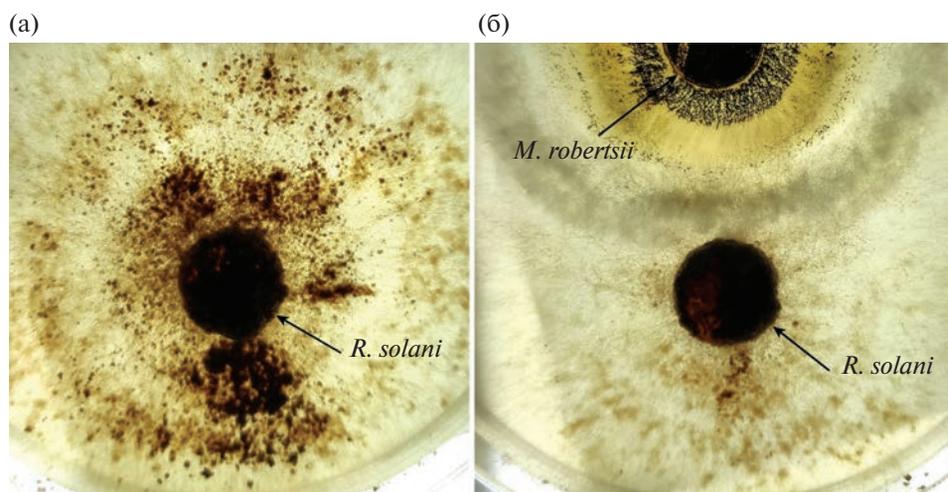
## ОБСУЖДЕНИЕ

Возбудитель ризоктониоза картофеля формирует обильную популяцию склероциев на клубнях (от 9 до 180 на один клубень) и в почве, достигая численности в агроэкосистемах картофеля более

50 пропагул на 100 г (Shaldyaeva et al., 2006). Энтомопатогенный гриб *M. robertsii* способен колонизировать подземные органы растений, в результате чего происходит стимулирование ряда биохимических процессов в растениях, сопряженных с повышением иммунитета. Многие авторы предполагают ключевую роль метаболитов энтомопатогенных грибов в ингибировании фитопатогенов. Причем влияние грибов на растение может быть опосредовано как воздействием непосредственно метаболитов гриба, так и собственно взаимодействием между грибом и растением (паттерн-распознающие структуры гриба могут выступать в качестве своеобразных элиситоров). Эти предположения были подтверждены в экспериментах с использованием бесклеточных фильтратов культур (Renwick et al., 1991; Bark et al., 1996; Sasan, Bidochka, 2013; Lozano-Tovar et al., 2017).

Для пояснения механизмов полифункционального действия энтомопатогенных грибов ряд авторов выдвигают следующие гипотезы: конкуренцию за субстрат (Ownley et al., 2004, 2008), антагонизм (Collemare et al., 2014; Ríos-Moreno et al., 2016; Garrido-Jurado et al., 2017) и активацию защитных систем растений в результате стресса (Ownley et al., 2010; Maksimov et al., 2015).

Предварительные лабораторные исследования антагонистических свойств штамма *M. robertsii* свидетельствовали об активном подавлении им гриба *Rhizoctonia solani*. Так, при длительном совместном культивировании энтомопатогена с *R. solani* отмечен эффект оплетания гиф и некротизации поверхностного мицелия возбудителя ризоктониоза (Tomilova et al., 2020). Проведенная нами количественная оценка плотности мицелиальных зачатков склероциев *R. solani* показала достоверное ингибирование формирования склероциев



**Рис. 2.** Сравнительная морфология культуры *Rhizoctonia solani* (а) и совместной культуры фитопатогена с *Metarhizium robertsii* (б). Плотность мицелия измеряли по интенсивности окраски в области под блоком *Rhizoctonia solani* с помощью программы ImageJ (10-е сут культивирования).

фитопатогена в присутствии *Metarhizium robertsii* на протяжении 50-ти суток культивирования.

Впервые в условиях производственных экспериментов установлено, что обработка клубней методом малообъемного опрыскивания суспензией конидий *M. robertsii* перед посадкой существенно сдерживает развитие ризоктониоза в течение всего вегетационного периода. На фазе полных всходов нами установлено достоверное снижение гибели ростков и индекса развития ризоктониоза на стеблях в результате обработки *M. robertsii*. В проведенных ранее исследованиях нами было отмечено, что начало колонизации растений грибами сопровождалось достоверным ростом активности защитных ферментов: пероксидазы в тканях корней (в 1.5 раза) и полифенолоксидазы в листьях (Tomilova et al., 2020), что свидетельствует об изменении иммунного статуса колонизируемых растений и соотносится с данными других исследователей (Hirano et al., 2008; Maksimov et al., 2015). Возможно, защитный эффект от ризоктониоза, обусловленный применением *M. robertsii*, сочетается как антагонистические свойства, так и активизацию защитной системы растения-хозяина.

Инокуляция картофеля энтомопатогенным грибом *M. robertsii* обеспечивала значительное улучшение семенных качеств полученных клубней в условиях Западной Сибири. Обобщенный показатель проявления заболевания (склероциальный индекс) снижался в 2.4 раза, а распространенность клубней со склероциями – в 2.8 раза по сравнению с контролем (табл. 2). Таким образом, обработка клубней *M. robertsii* позволит не только снизить ризоктониоз картофеля, но и контролировать распространение фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 19-14-00138.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abramoff M.D., Magelhaes P.J., Ram S.J. Image processing with Image. J. Biophotonics Int. 2004. V. 11 (7). P. 36–42.
- Baker K.F. Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. In: J. R. Parmeter (ed.). *Rhizoctonia solani*: Biology and pathology. San-Francisco, 1970. P. 125–148.
- Bark Y.G., Lee D.G., Kim Y.H. et al. Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*. Korean J. Plant Pathology. 1996. V. 12. P. 245–250.
- Bruck D.J. Fungal entomopathogens in the rhizosphere. Biocontrol. 2010. V. 55. P. 103–112. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9236-7>
- Carling D.E., Leiner R.H., Westphale P.C. Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease on potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* Ag-3. American Potato J. 1989. V. 66. P. 693–701.
- Collemare J., Griffiths S., Yuichiro L. et al. Secondary metabolism and biotrophic lifestyle in the tomato pathogen *Cladosporium fulvum*. PLOS One, 2014. V. 9. e85877. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085877>
- Flori P., Roberti R. La concia dei bulbi di cipolla con antagonisti fungini per il contenimento di *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. La difesa delle piante. 1993. V. 16. P. 5–12.
- Frank J.A., Leach S.S., Webb R.A. Evaluation of potato clone reaction to *Rhizoctonia solani*. Plant Dis. Rep. 1976. V. 60 (11). P. 910–912.
- Garrido-Jurado I., Resquín-Romero G., Amarilla S.P. et al. Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi foliar applications for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). J. Pest. Sci. 2017. V. 90 (1). P. 319–330. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0767-2>
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica. 2001. V. 4 (1). P. 1–9.
- Henis Y., Ghaffar A.R., Baker R. A new pellet soil-sample and its use for the study of population dynamics of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 1978. V. 19. P. 1269–1273.
- Hirano E., Koike M., Aiuchi D. et al. Pre-inoculation of cucumber roots with *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium muscarium*) induces resistance to powdery mildew. Res. Bull. Obihiro Univ. 2008. V. 29. P. 82.
- Hu G., St Leger R.J. Field studies using a recombinant mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. Appl. Envir. Microbiol. 2002. V. 68 (12). P. 6383–6387. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6383-6387.2002>
- Jaber L.R., Salem N.M. Endophytic colonisation of squash by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) for managing Zucchini yellow mosaic virus in cucurbits. Biocontrol Sci. Technol. 2014. V. 24(10). <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.923379>
- Kim J.J., Goettel M.S., Gillespie D.R. Evaluation of *Lecanicillium longisporum*, Vertalec® against the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and cucumber powdery mildew, *Sphaerotheca fuliginea* in a greenhouse environment. Crop Protection. 2010. V. 29 (6). P. 540–544.
- Ko W., Hora F.K. A selective medium for the quantitative determination of the *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology. 1971. V. 61. P. 707–710.
- Kryukov V.Y., Yaroslavtseva O.N., Tyurin M.V. et al. Ecological preferences of *Metarhizium* spp. from Russia and neighboring territories and their activity against Colorado potato beetle larvae. J. Invertebr. Pathol. 2017. V. 149. P. 1–7.
- Lednev G.R., Levchenko M.V., Pavlyushin V.A. Modern approaches to the development and use of mycoinsecticides to reduce the number of harmful arthropods. In: Abstracts of IV All-Russian Congress on Plant Protection with international participation “Phytopathology technologies in ensuring the independence and competitiveness of the agro-industrial complex of Russia”. St. Petersburg, 2019 (in Russ.).
- Lozano-Tovar M.D., Garrido-Jurado I., Quesada-Moraga E. et al. *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* release secondary metabolites with antagonistic activity against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora megasperma* olive pathogens. Crop Protection. 2017. V. 100. P. 186–195.
- Maksimov I.V., Sorokan A.V., Nafikova A.R. et al. On principal ability and action mechanisms of joint use of *Bacillus subtilis* 26D and *Beauveria bassiana* Ufa-2 preparation for potato protection against *Phytophthora infestans* and

- Leptinotarsa decemlineata*. Mikologiya i fitopatologiya 2015. V. 49 (5). P. 317–324.
- Ownley B.H., Pereira R.M., Klingeman W.E. et al. *Beauveria bassiana*, a dual purpose biological control with activity against insect pests and plant pathogens. In: R.T. Lartey and A.J. Caesar (eds). Emerging Concepts in Plant Health Management. Research Signpost, Delhi, 2004, pp. 255–269.
- Ownley B.H., Dee M.M., Gwinn K. Effect of conidial seed treatment rate of entomopathogenic *Beauveria bassiana* 11-98 on endophytic colonization of tomato seedlings and control of *Rhizoctonia* disease. Phytopathology. 2008. V. 98. P. 118.
- Ownley B.H., Gwinn K.D., Vega F.E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. BioControl. 2010. V. 55. P. 113–128. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9241-x>
- Renwick A., Campbell R., Coe S. Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. Plant Pathol. 1991. V. 40. P. 524–532.
- Ríos-Moreno A., Garrido-Jurado I., Resquín-Romero G. et al. Destruxin A production by *Metarhizium brunneum* strains during transient endophytic colonisation of *Solanum tuberosum*. Biocontrol Sci. Technol. 2016. V. 26 (11). P. 1574–1585.
- Sasan R.K., Bidochka M.J. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. Can. J. Plant Pathol. 2013. V. 35 (3). P. 288–293. <https://doi.org/10.1080/07060661.2013.823114>
- Serebrov V., Maljarchuk A., Shrelnshis M., Spontaneous variability of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) sor. strains as an approach for enhancement of insecticidal activity. Plant Sci. (Sofia) 2007. V. 44. 236e239.
- Shaldyaeva E.M., Pilipova Yu.V. Potato rhizoctoniosis: sclerocidal index. Zashchita i karantin rasteniy. 1999. V. 5. P. 16–17 (in Russ.).
- Shaldyaeva E.M., Pilipova Yu.V., Konyaeva N.M. Monitoring of rhizoctoniosis in agroecosystems of potatoes in Western Siberia. Novosibirsk, 2006 (in Russ.).
- Shaldyaeva E.M., Pilipova Yu.V. Harmful organisms of potato agroecosystems in the forest-steppe of Western Siberia and their evolutionary and ecological adaptations. Sibirskiy vestnik selskokhozyaystvennoy nauki. 2017. V. 41 (1). P. 65–73 (in Russ.).
- Tomilova O.G., Shaldyaeva E.M., Kryukova N.A. et al. Entomopathogenic fungi decrease *Rhizoctonia* disease in potato in field conditions. St. Petersburg, 2020.
- Tsrer L. Biology, ecology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. J. Phytopathol. 2010. V. 158. P. 649–658.
- Vega F.E. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. Mycologia. 2018. V. 110 (1). P. 4–30. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1418578>
- Wilson P.S., Ahvenniemi P.M., Lehtonen M.J. et al. Biological and chemical control and their combined use to control different stages of the *Rhizoctonia* disease complex on potato through the growing season. Annls Appl. Biol. 2008. V. 153. P. 307–320.
- Леднев Г.Р., Левченко М.В., Павлюшин В.А. (Lednev et al.) Современные подходы к разработке и применению микоинсектицидов для снижения численности вредных членистоногих // Сборник тезисов докладов IV Всероссийского съезда по защите растений с международным участием “Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России”. СПб., 2019.
- Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В. (Shaldyaeva, Pilipova) Ризоктониоз картофеля: склероциальный индекс // Защита и карантин растений. 1999. № 5. С. 16–17.
- Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В., Кonyaева Н.М. (Shaldyaeva et al.) Мониторинг ризоктониоза в агроэкосистемах картофеля Западной Сибири. Новосибирск, 2006. 200 с.
- Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В. (Shaldyaeva, Pilipova) Вредные организмы агроэкосистем картофеля лесостепи Западной Сибири и их эволюционно-экологические адаптации // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2017. Т. 41. № 1. С. 65–73.

## Efficiency of the Use of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium robertsii* Against Potato Rhizoctoniosis

E. M. Shaldyaeva<sup>a,b,#</sup>, Yu. V. Pilipova<sup>b,##</sup>, O. G. Tomilova<sup>a,c,###</sup>, and V. V. Glupov<sup>a,####</sup>

<sup>a</sup>Institute of Systematics and Ecology of Animals of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>b</sup>Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

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

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

<sup>##</sup>e-mail: pyuv260565@mail.ru

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

<sup>####</sup>e-mail: skif61@list.ru

For the first time in Western Siberia, production tests of an experimental prototype of the drug based on the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* were carried out. Its ability to significantly restrain the development of potato rhizoctoniosis throughout the entire growing season is shown. A significant decrease in the death of sprouts and the development of rhizoctoniosis on the stems was established in comparison with the control and chemical protectant. In the area with the use of *M. robertsii*, a significant increase in the number of healthy tubers (by 2.5 times) was noted, the number of tubers with sclerotia decreased by 2.8 times compared to the control. The effectiveness of *M. robertsii* in the suppression of rhizoctoniosis was high at all stages of potato ontogeny and amounted to 52–84%. In laboratory experiments in the presence of *M. robertsii*, a significant inhibition of the formation of *Rhizoctonia solani* sclerotia on tubers was established, as well as a decrease in their viability and size.

**Keywords:** biological effectiveness, entomopathogens, prevalence, *Rhizoctonia*-like fungi

УДК 582.288

**MICROMYCETES ROSSICAE: CHOROLOGICAL AND TAXONOMICAL NOTES.  
5. PSEUDOCERCOSPORELLA FILIPENDULAE (MYCOSPHAERELLALES,  
ASCOMYCOTA) – NEW FIND FOR SAINT PETERSBURG (RUSSIA)**

© 2023. I. V. Zmitrovich<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, 197376 St. Petersburg, Russia

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

Received November 15, 2022; revised December 22, 2022; accepted December 28, 2022

The present report continues the series devoted to rare and interesting species of microfungi from various regions of Russia that cause rust, shoot deformations or leaf spots, and highlights *Pseudocercospora filipendulae* (Mycosphaerellales, Ascomycota), a rare species new to Saint Petersburg City (Russia). The morphology of the species was repeatedly studied, emphasizing the conidia variability. This note gives further information on the distribution of the species in Russia, as well as the size of its conidia.

**Keywords:** cercosporoid fungi, conidia variability, *Filipendula*, leaf spots, *Mycosphaerellaceae*

**DOI:** 10.31857/S0026364823020137, **EDN:** NJJYWJ

The present report continues a series devoted to rare and interesting species of microfungi of various regions of Russia that cause rust, shoot deformations or leaf spots (Zmitrovich et al., 2020a, 2020b; Dudka, Zmitrovich, 2020, 2021) and highlights a less known representative of the genus *Pseudocercospora*.

The genus *Pseudocercospora* was described by Deighton (1973) for phytopathogenic, leaf spots-forming cercosporoid fungi with colorless/pale hyphae, well-developed to reduced (mostly hyaline) stromata, semi-micronematous to macronematous, simple, rarely branched, straight and subcylindric to geniculate-sinuuous, continuous (reduced to a single conidiogenous cell) or septate, solitary to fasciculate conidiophores forming flat, crustose to subglobose sporodochial conidiomata, separate or integrated, terminal, monoblastic, determinate to polyblastic, sympodial, indeterminate conidiogenous cells (conidiophores reduced to a single conidiogenous cell), and inconspicuous, thin-walled, hyaline, not darkened, subcylindrical, filiform or somewhat obclavate, euseptate, usually multiseptate, conidia of schizolytic separation pattern.

In light of molecular data, the genus appears to be polyphyletic (Frank et al., 2010), and not every species described so far have been verified molecularly. A number of species are known from scarce finds. In this notice, we focus on *Pseudocercospora filipendulae*, previously known from two finds in Russia.

This taxon was originally described as *Cercospora laxipes* f. *filipendulae* by Mel'nik (1966) based on some differences from f. *laxipes* in conidia size and substrate specialization ("Ad forma *laxipes* sporulis minutibus (28–60 × 3–4 μm) et hospitis *Filipendula ulmaria* (L.)

Maxim differ", *ibid.*). The type specimen was collected in the Russian Soviet Federative Socialist Republic (R.S.F.S.R.), Leningrad Region (Tosnensky district, near Lisino-Korpus village), in a swamp spruce forest of, on fresh leaves of *Filipendula ulmaria*. Later, Braun and Mel'nik (2008) raised the rank of this taxon to species and placed it in the genus *Pseudocercospora*, based on the morphological concept of the genus. Also, these authors have presented the second find of *Pseudocercospora filipendulae* from the Pskov region of Russia (Pechersky district, near Livimae station, also on living leaves of *Filipendula ulmaria*). We found this rare species in September 2022 in Saint Petersburg City (Pushkin, Babolovsky Park) on the same host. This is its third find in Russia; the new material collected broadens the understanding of the range of variability of the species' microstructures.

Macroscopic photographs were done using a Nikon D80 camera with AF Micro Nikkor 60 mm lens. Micromorphological analysis of lesions was performed using a Zeiss AxioImager.A1 light microscope. Micro-preparations were mounted in distilled water or a 5% KOH solution. The sizes of conidiophores and conidia were measured in 40–60 times random replicates in water. The variability of conidia was assessed according to the methods proposed by Parmasto et al. (1987).

*Pseudocercospora filipendulae* (Melnik) U. Braun et Melnik, Mikol. Fitopatol. 42 (4): 305, 2008. – *Cercospora laxipes* J.J. Davis f. *filipendulae* Melnik, Novit. Syst. Pl. non Vasc. 3: 218, 1966.

**Description.** Colonies hypophyllous, effuse, arachnoid or patches-forming, whitish-gray. Mycelium both



**Fig. 1.** Symptoms caused by *Pseudocercospora filipendulae* on *Filipendula ulmaria* (LE 287681): a – the upper leaf surface; b – the lower leaf surface. Scale bar – 1 cm.

internal and external. Vegetative hyphae septate, branched, hyaline, smooth, varies in diameter as:

Mel'nik (1966)  
2.5–3  $\mu\text{m}^1$

Braun, Mel'nik (2008)  
1.5–3.5  $\mu\text{m}$

current data  
(1.0) 1.5–4.0 (4.5)  $\mu\text{m}$

Stromata absent or reduced to slightly swollen basal cells. Conidiophores arising on superficial or substomatal mycelium, solitary or loose fasciculate, unbranched, more or less erect, straight or geniculate, cy-

lindrical, 0–1-septate, with 1–3 conidiogenous loci. Conidia solitary, obclavate to hyphoid or filiform, sometimes sublunate, hyaline, thin-walled, smooth, (0) 1–10-septate, varying in their sizes as:

length  $\times$  diameter in medial part  
diameter at the base

Mel'nik (1966)  
28–60  $\times$  3–4  $\mu\text{m}$   
1–2  $\mu\text{m}^2$

Braun, Mel'nik (2008)  
(10) 25–70 (85)  $\mu\text{m}$   
1–1.5  $\mu\text{m}$

current data  
(14) 22–60 (82)  $\mu\text{m}$   
(0.5) 1–1.5 (2.0)  $\mu\text{m}$

**Symptoms.** Leaf spots amphigenous, necrotic, diffuse to angular, 0.2–1.5 mm in diam., sometimes confluent in clusters up to 4 mm in diam., on the upper leaf surface first rose-red, then cinnamon-brown, on the lower leaf surface cinnamon-brown, sometimes with yellowish areolation.

**Hosts.** Only one host is known so far, namely *Filipendula ulmaria* (Rosaceae).

**Distribution range.** Russia: Leningrad Region, Pskov Region, Saint Petersburg.

**Material examined:** R.S.F.S.R., Leningrad Region, Tosno Rayon, Lisino-Korpus, 08.08.1963, on *F. ulmaria*, leg. et det. V.A. Mel'nik (LE 40409, holotype of *Cercospora laxipes* f. *filipendulae*). – Russia, Pskov Region, Pechery Rayon, Livimae, 11.08.2007, on *F. ulmaria*, leg. G.Yu. Konechnaya, det. V.A. Mel'nik

(LE 232213). – Russia, Saint Petersburg, Pushkin, Babolovsky Park, 25.09.2022, on *F. ulmaria*, leg. et det. I.V. Zmitrovich (LE 287681).

In other countries, according to our data, this species has not been recorded till now. It is possible that, like all members of the genus, this species is host-specific. North American *Pseudocercospora crataegi* is morphologically close to *P. filipendulae*, however, is distinguished by the regular formation of well-developed conidiophore fascicles, emerging through stomata, as well as larger conidia, reaching 120  $\times$  5  $\mu\text{m}$  and having up to 12 septa (Braun, 1995).

For all known localities, the host plant *Filipendula ulmaria* is a species of native flora. It is a species gravi-

<sup>1</sup> Calculated basing on scale-bar in the Figure 3 (Mel'nik, 1966).

<sup>2</sup> See footnote 1.

tating toward more or less aerated wetlands on black woody peat. In Saint Petersburg, the habitat is located in the undrained part of a park with vegetation in its natural dynamic phase (birch–alder swamp forest). All known finds of the pathogen are located in the southern taiga subzone, no material has been yet obtained from the middle taiga subzone.

The work was carried out using technique of the Center “Cellular and Molecular Technologies for Studying Plants and Fungi” at Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences and was supported by the State Research Task (BIN RAS, № 122011900033–4).

## REFERENCES

- Braun U.* A monograph of *Cercospora*, *Ramularia*, and allied genera (phytopathogenic *Hyphomycetes*). IHW-Verlag, Eching, 1995.
- Braun U., Mel'nik V.A.* *Pseudocercospora filipendulae* – a new hyphomycete species from Russia. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2008. V. 42 (4). P. 305–307.
- Deighton F.C.* Studies on *Cercospora* and allied genera. IV. *Cercospora* Sacc., *Pseudocercospora* gen. nov. and *Pseudocercosporidium* gen. nov. *Mycol. Papers*. 1973. V. 133. P. 1–62.
- Dudka V.A., Zmitrovich I.V.* Micromycetes Rossicae: Chorological and taxonomical notes. 3. *Exobasidium sundstroemii* (*Exobasidiales*, *Basidiomycota*) – new find for Leningrad Region. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2020. T. 54, № 6. P. 460–464. <https://doi.org/10.31857/S0026364820060069>
- Dudka V.A., Zmitrovich I.V.* Micromycetes Rossicae: chorological and taxonomical notes. 4. *Sphacelotheca hydropiperis* and *Microbotryum cordae* (*Pucciniomycotina*, *Microbotryomycetes*), two difficult to detection *Persicaria*-associated micromycetes, new for Volgograd Region (Russia) // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2021. T. 55, № 6. C. 453–456. <https://doi.org/10.31857/S0026364821060076>
- Frank J., Crous P.W., Groenewald J.Z. et al.* *Microcyclospora* and *Microcyclosporella*: novel genera accommodating epiphytic fungi causing sooty blotch on apple. *Peresoonia*. 2010. V. 24. P. 93–105. <https://doi.org/10.3767/003158510X510560>
- Mel'nik V.A.* New imperfect fungi. I. *Novosti sistematiki nizschikh rasteniy*. 1966. V. 3. P. 214–218 (in Russ.).
- Parmasto E., Parmasto I., Möls T.* Variation of basidiospores in the *Hymenomycetes* and its significance to their taxonomy. *Bibliotheca Mycol.* 1987. V. 115. P. 1–168.
- Zmitrovich I.V., Dudka V.A., Shevchuk S.V.* Micromycetes Rossicae: Chorological and taxonomical notes. 1. *Chrysomyxa succinea* (*Pucciniales*, *Basidiomycota*) – new find for Saint Petersburg, European Russia. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2020. V. 54 (4). P. 305–308. <https://doi.org/10.31857/S0026364820040133>
- Zmitrovich I.V., Dudka V.A.* Micromycetes Rossicae: Chorological and Taxonomical notes. 2. *Melampsora arctica* (*Pucciniales*, *Basidiomycota*) – urediniospore variability in specimens from European and Siberian Arctic. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2020. V. 54 (5). P. 384–388. <https://doi.org/10.31857/S0026364820050128>
- Мельник В.А. (Mel'nik)* Новые несовершенные грибы. I // *Новости систематики низших растений*. 1966. Т. 3. С. 214–218.

## Микромицеты России: географические и таксономические заметки.

### 5. *Pseudocercospora filipendulae* (*Mycosphaerellales*, *Ascomycota*) – новая находка для Санкт-Петербурга (Россия)

И. В. Змитрович<sup>a, #</sup>

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

<sup>#</sup>e-mail: iv\_zmitrovich@mail.ru

Сообщение продолжает серию по редким и интересным видам фитопатогенных микромицетов и посвящено *Pseudocercospora filipendulae* (*Mycosphaerellales*, *Ascomycota*) – редкому виду, впервые обнаруженному в г. Санкт-Петербурге (Россия). Продолжено изучение морфологических особенностей вида, в частности, вариабельность размеров конидий.

**Ключевые слова:** изменчивость конидий, листовые пятнистости, церкоспороидные грибы, *Filipendula*, *Mycosphaerellaceae*

УДК 582.28(092)

## К 70-ЛЕТИЮ ЮРИЯ КАПИТОНОВИЧА НОВОЖИЛОВА

© 2023 г. И. В. Землянская<sup>1,\*</sup>, А. В. Власенко<sup>2,\*\*</sup>

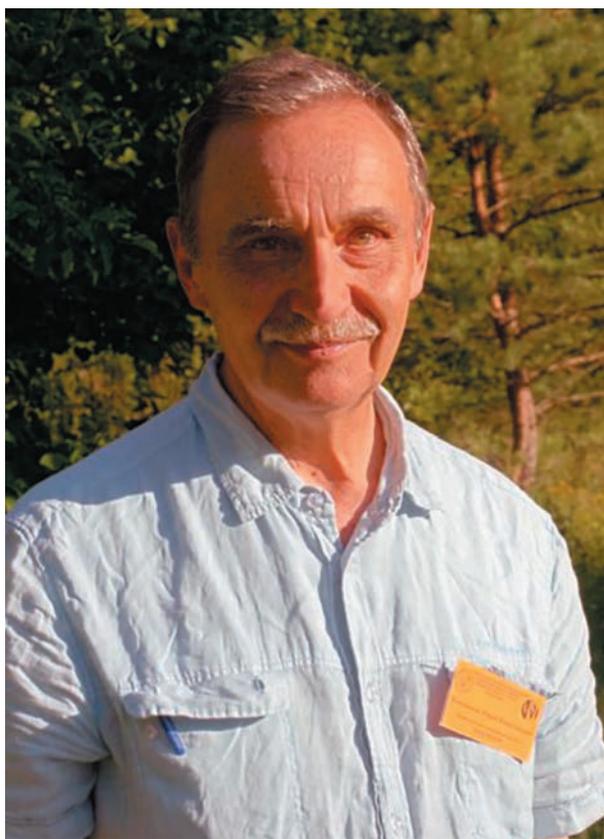
<sup>1</sup>Волгоградский государственный медицинский университет, 400131 Волгоград, Россия

<sup>2</sup>Центральный Сибирский ботанический сад СО РАН, 630090 Новосибирск, Россия

\*e-mail: ignis@list.ru

\*\*e-mail: anastasiamix81@mail.ru

DOI: 10.31857/S0026364823020125, EDN: NJIQTS



28 января 2023 г. исполнилось 70 лет Юрию Капитоновичу Новожилову – известному микологу и протистологу, доктору биологических наук, профессору, заслуженному деятелю науки РФ. Свою творческую судьбу Юрий Капитонович связал с всесторонним изучением удивительной группы организмов – миксомицетов (*Myxomycetes*), прежде всего, их видового и экологического разнообразия в различных биомах Земли. География его экспедиций включает Европу (европейская часть России, Франция, Германия, Испания), Арктику, Антарктику, Камчатку, Аляску, Дальний Восток, степи и пустыни Казахстана, Северной Америки, Монголии, Прикаспия, Оренбуржья, а также Северный Кавказ, таежные леса Сибири, Алтая,

Урала, Северной Европы, палеотропики (Вьетнам) и неотропики (Пуэрто-Рико, Коста-Рика, Эквадор, Бразилия). Для многих из этих регионов это были первые исследования миксомицетов.

Вся научная деятельность Юрия Капитоновича связана с Ботаническим институтом им. В.Л. Комарова, где он прошел путь от старшего лаборанта до заведующего лабораторией. В 1975 г. он окончил биолого-почвенный факультет Ленинградского государственного университета (кафедра зоологии беспозвоночных), и пришел в группу по изучению патологических новообразований у растений, руководимую д.б.н. Эриком Иосифовичем Слепяном. Группа была создана в БИНе с целью изучения проблем тератогенеза у растений как под воздействием различных фитопатогенов, так и под влиянием канцерогенов и других неблагоприятных факторов среды. В составе этой группы работали также другие известные впоследствии ученые, такие как И.В. Каратыгин, Н.П. Васильев. С 1981 г. по настоящее время деятельность Ю.К. Новожилова связана с лабораторией систематики и географии грибов БИН РАН, где он защитил кандидатскую (1981 г., руководитель – М.А. Бондарцева) и докторскую (2005 г., консультант – И.В. Каратыгин) диссертации. В 2011 г. ему присвоено звание профессора, в 2021 г. – Заслуженного деятеля науки Российской Федерации.

Ю.К. Новожилов известен как крупный ученый у нас в стране и за рубежом благодаря своим работам в области географии, морфологии и систематики миксомицетов. Написанный им “Определитель грибов России: отдел Слизевики. Вып. 1. Класс Миксомицеты” (1993) был первым руководством по работе с этими организмами, изданным после 1907 г. в нашей стране и единственным до 2022 г. определителем на русском языке. Им опубликовано более 250 научных трудов, в числе которых 11 монографий, посвященных грибам и слизевикам. Юрием Капитоновичем с соавторами описаны 2 рода и 24 новых вида миксомицетов.

Юрий Капитонович со своими учениками впервые провел планомерные кропотливые исследования по инвентаризации и анализу видовой

структуры сообществ миксомицетов во всех основных природных зонах России. В результате были разработаны и внедрены новые методы по сбору, систематизации информации и регистрации данных о гербарных образцах миксомицетов. Он стоял у истоков создания Базы данных о микологическом гербарии БИН РАН (LE), которая развивается и продолжает пополняться по сей день. Он собственноручно пополнил микологический гербарий более чем 20 000 образцами миксомицетов. С его участием были опубликованы первые сведения и списки видов миксомицетов для ряда регионов России и других стран: Ленинградской обл. (1980, 1986, 1999, 2007), Алтайского края (2009, 2010, 2013), Приморского края, Северного Прикаспия (2000, 2003, 2005, 2006), Чукотки (1986, 2000), Камчатки (2017), Аляски (2002), Свердловской обл. (2001), Тверской обл. (2006), Калмыкии (2022), Татарстана (2022), Тывы (2021), Монголии (1986, 2008), Белоруссии (1988), Украины (1983, 1985, 1985, 1986, 1988), Казахстана (2018, 2020, 2020), Вьетнама (2012, 2013, 2014, 2015, 2020), ряда охраняемых природных территорий: Лапландского природного биосферного заповедника (2020), Лазовского заповедника (1989, 2020), Сихотэ-Алинского государственного природного биосферного заповедника имени К.Г. Абрамова (2017), Тебердинского природного биосферного заповедника (2011, 2013), Центрально-лесного государственного заповедника (1980), Центрально-черноземного биосферного заповедника им. В.В. Алехина (1984), Алтайского заповедника (1987; 2010), Оренбургского заповедника (2006), заповедника “Столбы” (2008), Тигирецкого заповедника (2010) и др. Юрий Капитонович принимал участие в создании Красной книги Ленинградской (2018) и Волгоградской (2017) областей.

По мере обогащения арсенала фаунистических и таксономических исследований молекулярно-филогенетическими методами и биоинформатическим инструментарием, Юрий Капитонович активно их осваивает, применяя для решения проблем систематики, филогении, филогеографии и экологии миксомицетов, их скрытого разнообразия. В результате были скорректированы филогенетические взаимоотношения между таксонами, проведена ревизия их границ на основе комплексного подхода с использованием молекулярно-филогенетического, морфологического, экологического и географического анализа; установлено распределение филогенетических маркеров по ареалам морфовидов миксомицетов. Он внес значительный вклад в современную систематику миксомицетов (2019). Под его руководством разработана, реализована и протестирована электронная база ДНК-штрихкодов темноспоровых и светлоспоровых миксомицетов на основе коллекций референсных гербарных образцов плодовых тел (спорофоров) миксомицетов. Кроме того,

Юрий Капитонович с его коллективом впервые в России провел комплексные исследования скрытого разнообразия почвенных сообществ миксомицетов на основе метагеномных технологий.

Ю.К. Новожилов — талантливый организатор. Под его руководством и активном участии выполнялись международные проекты “Distribution maps of *Myxomycetes*”, “Linking local databases for collections of plasmodial slime moulds (*Myxomycetes*) to create a global web-based herbarium” (The Global Biodiversity Information Facility (GBIF)), крупные отечественные проекты “Информационная система по биоразнообразию” (руководитель рабочей группы со стороны БИН РАН). Также он являлся руководителем программ “Биологическое разнообразие России”, “Биоразнообразие: состояние и динамика”. Под его руководством успешно завершены многие проекты РФФИ. В настоящее время под его руководством выполняется программа научных исследований и технологических работ совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра на 2020–2025 гг. по направлению “Тропическая экология” (проект “Таксономическое и экологическое разнообразие микобиоты тропических лесов Вьетнама”) и программа “Биоразнообразие, экология и структурно-функциональные особенности грибов и грибообразных протистов”, грант РНФ «Реконструкция “глубокой филогении”» грибообразных протистов (*Myxomycetes = Eumycetozoa*) на основе данных, полученных методом “genome skimming”, а также проект “Гербарные фонды биологического разнообразия растений и грибов Коллекционного фонда Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН: модернизация, развитие и сетевое взаимодействие как основа фундаментальных исследований и совершенствования генетических технологий”, который получил поддержку в рамках реализации отдельных мероприятий Федеральной научно-технологической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг. В настоящее время Юрий Капитонович является председателем Микологической секции Русского ботанического общества, заместителем председателя Диссертационного совета 24.1.002.01, заместителем председателя Ученого совета БИН РАН, руководителем лаборатории систематики и географии грибов БИН РАН, разрабатывает и читает курсы в рамках программы подготовки аспирантов по специальности “Микология” в БИН РАН, руководит аспирантами и магистрантами. Юрий Капитонович разжег искру любви к миксомицетам в далекой Сибири и на протяжении более 15 лет поддерживает развитие этого направления в ЦСБС СО РАН совместными проектами и научно-методическими консультациями.

Ю.К. Новожилов является врио главного редактора журнала РАН “Микология и фитопатоло-

гия”, членом редколлегии научных изданий “Новости систематики низших растений”, “Биосфера”, “Protistology”.

Своим богатым опытом и знаниями в области микологии и протистологии Юрий Капитонович щедро делится с коллегами, занимается подготовкой нового поколения молодых ученых. Его ученики всегда чувствовали доброжелательное отношение и заботу. Он обладает способностью создавать вокруг себя микроклимат увлеченности и творчества, способствующий эффективному исследовательскому процессу и достижению значимых результатов. Под его руководством успешно защищены семь кандидатских и две докторские диссертации. Его ученики работают в разных уголках страны и за ее пределами: Землянская Инна Владимировна – в Волгограде, Кошелева Елена Петровна – в Латвии, Фефелов Константин Александрович – в Екатеринбурге, Власенко Анастасия Владимировна – в Новосибирске, Окунь Михаил Вадимович – в Австрии, Ерастова Дарья Александровна – в Новой Зеландии, Щепин Олег Николаевич – в Германии, Мороз Евгений Леонидович – в Республике Беларусь, Гмошинский Владимир Иванович – в Москве. Несмотря на то, что не все они связали свою дальнейшую жизнь с изучением миксомицетов, каждый из них внес весомый вклад в науку и с огромной благодарностью вспоминает своего учителя и гордится тем, что ему довелось работать с ним. В честь Юрия Капитоновича был описан новый вид миксомицетов, обнаруженный в Сибири – *Echinostelium novozhilovii*.

Интересы Юрия Капитоновича удивительно разнообразны. Он потрясающе эрудирован, в его библиотеке можно найти книги по филологии, археологии, искусствоведению, математике, медицине, истории. Каждая экспедиция с ним – это увлекательное путешествие, в котором Юрий Капитонович всегда становится и великолепным гидом, и генератором идей и маршрутов, и надежным товарищем, который постарается взвалить на свои плечи основную массу проблем и работ. Юрий Капитонович отлично разбирается в видовом разнообразии птиц и на протяжении многих лет увлекается их профессиональной фотосъемкой. Им создан прекрасный электронный атлас

птиц, обитающих на островах Финского залива. Юрий Капитонович очень любит и хорошо знает свой город Санкт-Петербург и его историю. Проголоски с ним по Петербургу – это невероятное приключение, с которым не могут сравниться никакие профессиональные экскурсии. Он может показать необыкновенные, не туристические, но не менее интересные и красивые уголки старого города и рассказать о них ярко и красочно. Он всегда знает о самых неожиданных мероприятиях, которые проходят в городе – от художественных выставок до рок-концертов.

У Юрия Капитоновича очень надежная и крепкая семья, которая его во всем поддерживает. Его жена Голубева Ольга Георгиевна на протяжении многих лет является для Юрия Капитоновича источником вдохновения для достижения больших высот и утешением в моменты неудач. У него прекрасные дети и внуки. Он – страстный рыбак и аквариумист. У него дома и в лаборатории всегда есть необыкновенной красоты аквариумы с необычными обитателями. Кроме того, он очень любит собак и кошек. Юрий Капитонович – очень позитивный и неконфликтный человек, что превращает работу с ним в праздник и удовольствие. Он умеет зажигать любовь к науке в сердцах молодежи, которая остается с ней на всю оставшуюся жизнь. Он умеет шутить, быть душой компании и слышать чужое мнение. Юрий Капитонович умеет жить ярко и так же ярко, эмоционально, очень убедительно и глубоко писать статьи, которые самые респектабельные российские и зарубежные издания считают за честь опубликовать. Счастье, когда жизнь сводит тебя с таким человеком. Счастье, когда ты имеешь возможность хотя бы изредка с ним общаться. Невероятное удовольствие видеть и слушать его. Каждая встреча подобна глотку свежего воздуха.

Редакционная коллегия журнала “Микология и фитопатология”, коллектив лаборатории и многочисленные ученики и коллеги поздравляют Юрия Капитоновича с его замечательным юбилеем, желают ему крепкого здоровья, жизненной энергии, достаточной для успешного исполнения всех намеченных планов и творческих задумок.

## To the 70th Anniversary of Yuriy Kapitonovich Novozhilov

I. V. Zemlyanskaya<sup>a,#</sup> and A. V. Vlasenko<sup>b,##</sup>

<sup>a</sup>*Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia*

<sup>b</sup>*Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: ignis@list.ru*

<sup>##</sup>*e-mail: anastasiamix81@mail.ru*

**АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ ТОМА 56,  
“МИКОЛОГИЯ И ФИТОПАТОЛОГИЯ”  
Authors index (“Mycology and Phytopathology”, V. 56, 2022)**

DOI: 10.31857/S0026364823010038, EDN: DTTWCZ

	№	Стр.
Абакумов Е.В. см. И.Ю. Кирцидели, Д.Ю. Власов, В.А. Ильюшин, Е.В. Абакумов, А.Л. Лapidус	2	86
Аблова И.Б. см. Ю.В. Зеленева, И.Б. Аблова, В.П. Судникова, Л.М. Мохова, Э.А. Конькова .....	6	441
Агаменноне В. см. А. Ла Роза, В. Агаменноне, А. Саиттак, Э. Амбросио .....	1	31
Акматалиева Н.М. см. К.Д. Бавланкулова, С.Н. Мосолова, М.Р. Ганыбаева, Н.М. Акматалиева ....	2	79
Амбросио Э. см. А. Ла Роза, В. Агаменноне, А. Саиттак, Э. Амбросио .....	1	31
Андреева Т.А. см. С.Д. Каракотов, Н.В. Аршава, М.Б. Башкатова, Т.А. Андреева .....	5	366
Аникина Н.А. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Аршава Н.В. см. С.Д. Каракотов, Н.В. Аршава, М.Б. Башкатова, Т.А. Андреева .....	5	366
Афанасенко О.С. см. Н.В. Мироненко, А.В. Хютти, Е.И. Кырова, Д.А. Белов, О.С. Афанасенко	4	284
Ахмеджанов И.Г., Хотамов М.М. Исследование вилтоустойчивости хлопчатника методом флуоресцентной спектроскопии .....	2	105
Ахмедова З.Р., Шонахунов Т.Э., Гулямова И.Т., Хамраева З.Т. Оценка активности гидролитических ферментов и изменения аминокислотного состава спиртовой барды после глубинного культивирования <i>Pleurotus ostreatus</i> и <i>Agaricus bisporus</i> .....	4	264
Бавланкулова К.Д., Мосолова С.Н., Ганыбаева М.Р., Акматалиева Н.М. Первые сведения о микромицетах северного склона Туркестанского хребта .....	2	79
Башкатова М.Б. см. С.Д. Каракотов, Н.В. Аршава, М.Б. Башкатова, Т.А. Андреева .....	5	366
Бекер Х.Дж. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Белов Д.А. см. Н.В. Мироненко, А.В. Хютти, Е.И. Кырова, Д.А. Белов, О.С. Афанасенко .....	4	284
Бирюков В.В., Павлов И.Н., Литовка Ю.А., Орешкова Н.В., Шаров В.В., Симонов Е.П., Кузьмин Д.А., Крутовский К.В. De novo сборка и аннотация транскриптома нового фитопатогенного штамма <i>Corinectria</i> sp. из Сибири .....	2	114
Благовещенская Е.Ю. см. О.В. Воронко, Е.Г. Попкова, Е.Ю. Благовещенская .....	4	294
Богачева А.В. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Богачева А.В. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Большаков С.Ю. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Большаков С.Ю. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Бондарцева М.А., Змитрович И.В. Порядок <i>Cantharellales</i> : таксономическая и экологическая диверсификация .....	5	307
Боровичев Е.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Бортников Ф.М. см. Е.С. Губанов, В.И. Гмошинский, Ф.М. Бортников, А.В. Матвеев, Ю.К. Новожилов .....	6	393
Ботяков В.Н. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Будынков Н.И. см. Г.Д. Соколова, Н.И. Будынков, Е.Е. Целипанова, А.П. Глинушкин .....	1	3
Булах Е.М. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254

	№	Стр.
Булгаков Т.С., Ширияев А.Г. Мучнисторосяные грибы ( <i>Erysiphaceae</i> ) на древесных растениях в городских местообитаниях Свердловской области (Россия) .....	5	323
Бульонкова Т.М. см. Е.А. Звягина, Н.А. Сазанова, Т.М. Бульонкова .....	5	332
Буркин А.А. см. Г.П. Кононенко, Е.А. Пирязева, Е.В. Зотова, А.А. Буркин .....	4	276
Бухарова Н.В. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Виноградова Ю.А., Лаптева Е.М., Ковалева В.А., Перминова Е.М. Разнообразие почвенных микромицетов в торфяных мерзлотных почвах южной тундры .....	3	155
Власенко А.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Власенко В.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Власов Д.Ю. см. И.Ю. Кирцидели, Д.Ю. Власов, В.А. Ильющин, Е.В. Абакумов, А.Л. Лапидус ....	2	86
Власов Д.Ю. см. К.В. Сазанова, Н.Г. Осмоловская, Д.Ю. Власов .....	4	231
Волкова Г.В. см. М.С. Гвоздева, Г.В. Волкова .....	1	52
Волобуев С.В., Большаков С.Ю., Химич Ю.Р., Ширияев А.Г., Ребриев Ю.А., Потапов К.О., Попов Е.С., Капитонов В.И., Паламарчук М.А., Калинина Л.Б., Косолапов Д.А., Ставищенко И.В., Переведенцева Л.Г., Власенко В.А., Ежов О.Н., Кириллов Д.В., Ботяков В.Н., Паломожных Е.А., Дежидмаа Т., Леострин А.В., Ефимова А.А., Боровичев Е.А., Шахова Н.В., Шишигин А.С., Власенко А.В., Змитрович И.В. “Новые виды для региональных микобиот России. 6. Информационное сообщение – 2021”: Иллюстрации новых для России видов .....	3	220
Волобуев С.В., Большаков С.Ю., Калинина Л.Б., Капитонов В.И., Попов Е.С., Саркина И.С., Ребриев Ю.А., Леострин А.В., Ефимова А.А., Шахова Н.В., Ежов О.Н., Исаева Л.Г., Крючкова О.Е., Змитрович И.В. Новые виды для микобиот регионов России. 7. Информационное сообщение – 2022 .....	6	383
Волобуев С.В. см. Ю.Ю. Иванушенко, С.В. Волобуев .....	6	411
Воронко О.В., Попкова Е.Г., Благовещенская Е.Ю. Вторичное поровое соединение между коллатеральными гифами у <i>Epichloe</i> sp. ....	4	294
Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю., Орина А.С., Гогина Н.Н. Разнообразие грибов рода <i>Fusarium</i> и их микотоксинов в зерне из азиатской части России .....	3	194
Гагкаева Т.Ю. см. О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева, А.С. Орина, Н.Н. Гогина .....	3	194
Ганнибал Ф.Б. см. И.А. Казарцев, М.М. Гомжина, Е.Л. Гасич, Л.Б. Хлопунова, Ф.Б. Ганнибал ....	2	127
Ганнибал Ф.Б., Орина А.С. Электронный ключ для идентификации грибов рода <i>Alternaria</i> , распространенных в России .....	6	431
Ганыбаева М.Р. см. К.Д. Бавланкулова, С.Н. Мосолова, М.Р. Ганыбаева, Н.М. Акматалиева .....	2	79
Гасич Е.Л. см. И.А. Казарцев, М.М. Гомжина, Е.Л. Гасич, Л.Б. Хлопунова, Ф.Б. Ганнибал .....	2	127
Гвоздева М.С., Волкова Г.В. Влияние фунгицида Колосаль на структуру популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы по признакам патогенности и чувствительности .....	1	52
Глинушкин А.П. см. Г.Д. Соколова, Н.И. Будынков, Е.Е. Целипанова, А.П. Глинушкин .....	1	3
Гмошинский В.И. см. Е.С. Губанов, В.И. Гмошинский, Ф.М. Бортников, А.В. Матвеев, Ю.К. Новожилов .....	6	393
Гогина Н.Н. см. О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева, А.С. Орина, Н.Н. Гогина .....	3	194
Гомжина М.М. см. И.А. Казарцев, М.М. Гомжина, Е.Л. Гасич, Л.Б. Хлопунова, Ф.Б. Ганнибал ....	2	127
Губанов Е.С., Гмошинский В.И., Бортников Ф.М., Матвеев А.В., Новожилов Ю.К. Род <i>Perichaena</i> ( <i>Mucomycetes</i> , <i>Trichiales</i> , <i>Arcyriaceae</i> ): таксономическая история и рекомендации по идентификации морфовидов .....	6	393
Гулямова И.Т. см. З.Р. Ахмедова, Т.Э. Шонахунов, И.Т. Гулямова, З.Т. Хамраева .....	4	264
Дежидмаа Т. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Ежов О.Н. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Ежов О.Н. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Ерофеева Е.А. см. Н.А. Кочунова, Е.А. Ерофеева .....	1	22

	№	Стр.
Ерофеева Е.А. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Ефимова А.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Ефимова А.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Захарова Е.А. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Звягина Е.А., Сазанова Н.А. Первая в России находка <i>Suillus glandulosus</i> ( <i>Suillaceae</i> ) из Магадан- ской области .....	1	16
Звягина Е.А. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Звягина Е.А. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Звягина Е.А., Сазанова Н.А., Бульонкова Т.М. <i>Suillus paluster</i> и <i>S. ochraceoroseus</i> ( <i>Boletales</i> ) в Север- ной Азии .....	5	332
Зеленева Ю.В., Аблова И.Б., Судникова В.П., Мохова Л.М., Конькова Э.А. Видовой состав возбу- дителей септориозов пшеницы в европейской части России и идентификация генов-эффекто- ров <i>SnToxA</i> , <i>SnTox1</i> и <i>SnTox3</i> .....	6	441
Змитрович И.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Змитрович И.В., Сытин А.К. Микологическое наследие Иоганна Буксбаума. 4. Грибы, описан- ные в четвертой “Центурии” (1733). 2. Лентиниоидные виды .....	4	302
Змитрович И.В. см. М.А. Бондарцева, И.В. Змитрович .....	5	307
Змитрович И.В. см. А.Г. Ширяев, И.В. Змитрович, О.С. Ширяева .....	5	350
Змитрович И.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Змитрович И.В., Сытин А.К. Микологическое наследие Иоганна Буксбаума. 5. Грибы, описан- ные в четвертой “Центурии” (1733). 3. Руссулоидные виды, три истинных и четвертый, неверно интерпретированный Линнеем .....	6	448
Зотова Е.В. см. Г.П. Кононенко, Е.А. Пирязева, Е.В. Зотова, А.А. Буркин .....	4	276
Иванова А.Е. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Иванушенко Ю.Ю., Волобуев С.В. Новые и интересные находки афиллофороидных грибов на территории плато Гуниб (Дагестан, Россия) .....	6	411
Ильющин В.А. см. И.Ю. Кирцидели, Д.Ю. Власов, В.А. Ильющин, Е.В. Абакумов, А.Л. Лapidус	2	86
Исаева Л.Г. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Исмухамбетов Ж.Д. К юбилею Мурата Койшыбаева .....	5	379
Казарцев И.А., Гомжина М.М., Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Ганнибал Ф.Б. Разнообразии грибов рода <i>Colletotrichum</i> на некоторых дикорастущих и культурных растениях .....	2	127
Калинина Л.Б. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Калинина Л.Б. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Калинина Л.Б., Паломожных Е.А., Попов Е.С. Гербарий грибов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Типовые образцы таксонов порядка <i>Boletales</i> .....	6	419
Капитонов В.И. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Капитонов В.И. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Каракотов С.Д., Аршава Н.В., Башкатова М.Б., Андреева Т.А. Идентификация <i>Pestalotiopsis fune-</i> <i>rea</i> на пораженных деревьях туи западной в декоративных насаждениях Московской области (Россия) .....	5	366
Карпов В.А., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А., Захарова Е.А., Шишкин А.Ю., Иванова А.Е., Семенова Т.А. Действие биоцидов на активность ряда экстрацеллюлярных ферментов грибов-деструкторов технических изделий, эксплуатируемых в условиях тропиче- ского климата (Вьетнам) .....	3	185
Кириллов Д.В. см. М.А. Паламарчук, Д.В. Кириллов .....	1	36
Кириллов Д.В. см. М.А. Паламарчук, Д.В. Кириллов, Д.М. Шадрин .....	3	171
Кириллов Д.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220

	№	Стр.
Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Ильюшин В.А., Абакумов Е.В., Лapidус А.Л. Микроскопические грибы в почвах черневой тайги Западной Сибири .....	2	86
Ковалева В.А. см. Ю.А. Виноградова, Е.М. Лаптева, В.А. Ковалева, Е.М. Перминова .....	3	155
Кононенко Г.П., Пирызева Е.А., Зотова Е.В., Буркин А.А. Хемо- и фенотипы потенциально токсигенного гриба <i>Aspergillus flavus</i> .....	4	276
Конькова Э.А. см. Ю.В. Зеленева, И.Б. Аблова, В.П. Судникова, Л.М. Мохова, Э.А. Конькова ....	6	441
Косолапов Д.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Котиранта Х. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Коткова В.М. Новые сведения об афиллофороидных грибах памятника природы “Изборско-Мальская долина” (Псковская область, Россия) .....	4	245
Кочунова Н.А., Ерофеева Е.А. Новые сведения о базидиальных макромицетах Зейского заповедника .....	1	22
Кочунова Н.А. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Крутовский К.В. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114
Крючкова О.Е. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Кузнецова А.А. см. Ю.В. Цветкова, А.А. Кузнецова .....	2	140
Кузьмин Д.А. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114
Кырова Е.И. см. Н.В. Мироненко, А.В. Хютти, Е.И. Кырова, Д.А. Белов, О.С. Афанасенко .....	4	284
Ла Роза А., Агаменноне В., Сайттак А., Амбросио Э. Редкий средиземноморский вид <i>Xylaria putaminum</i> ( <i>Xylariaceae</i> , <i>Ascomycota</i> ): первая находка в Италии .....	1	31
Лapidус А.Л. см. И.Ю. Кирцидели, Д.Ю. Власов, В.А. Ильюшин, Е.В. Абакумов, А.Л. Лapidус	2	86
Лаптева Е.М. см. Ю.А. Виноградова, Е.М. Лаптева, В.А. Ковалева, Е.М. Перминова .....	3	155
Леострин А.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Леострин А.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Литовка Ю.А. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114
Лободина Е.В. см. А.И. Насонов, Г.В. Якуба, Е.В. Лободина .....	5	374
Матвеев А.В. см. Е.С. Губанов, В.И. Гмошинский, Ф.М. Бортников, А.В. Матвеев, Ю.К. Новожилов .....	6	393
Мелькумов Г.М., Рошупкина Е.В., Мелькумова Е.А. К 140-летию со дня рождения Александра Михайловича Сигрианского (1882–1967) .....	3	214
Мелькумова Е.А. см. Г.М. Мелькумов, Е.В. Рошупкина, Е.А. Мелькумова .....	3	214
Мироненко Н.В., Хютти А.В., Кырова Е.И., Белов Д.А., Афанасенко О.С. Первое обнаружение вириода веретенovidности клубней картофеля в природных изолятах возбудителя фитофтороза картофеля <i>Phytophthora infestans</i> .....	4	284
Мосолова С.Н. см. К.Д. Бавланкулова, С.Н. Мосолова, М.Р. Ганыбаева, Н.М. Акматалиева .....	2	79
Мохова Л.М. см. Ю.В. Зеленева, И.Б. Аблова, В.П. Судникова, Л.М. Мохова, Э.А. Конькова .....	6	441
Насонов А.И., Якуба Г.В., Лободина Е.В. Длительное сохранение резистентности к карбендазиму у <i>Venturia inaequalis</i> в Краснодарском крае (Россия) .....	5	374
Новожилов Ю.К. см. Е.С. Губанов, В.И. Гмошинский, Ф.М. Бортников, А.В. Матвеев, Ю.К. Новожилов .....	6	393
Орешкова Н.В. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114
Орина А.С. см. О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева, А.С. Орина, Н.Н. Гогина .....	3	194
Орина А.С. см. Ф.Б. Ганнибал, А.С. Орина .....	6	431
Осмоловская Н.Г. см. К.В. Сазанова, Н.Г. Осмоловская, Д.Ю. Власов .....	4	231

	№	Стр.
Павлов И.Н. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114
Паламарчук М.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Паламарчук М.А., Кириллов Д.В. Дополнения к биоте агарикидных базидиомицетов ( <i>Agaricomycetes</i> , <i>Basidiomycota</i> ) национального парка “Югыд ва” (Республика Коми, Россия) .....	1	36
Паламарчук М.А., Кириллов Д.В., Шадрин Д.М. <i>Lactarius kauffmanii</i> ( <i>Russulales</i> , <i>Russulaceae</i> ) – первая находка в Европе .....	3	171
Паломожных Е.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Паломожных Е.А. см. Л.Б. Калинина, Е.А. Паломожных, Е.С. Попов .....	6	419
Переведенцева Л.Г. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Перминова Е.М. см. Ю.А. Виноградова, Е.М. Лаптева, В.А. Ковалева, Е.М. Перминова .....	3	155
Пирязева Е.А. см. Г.П. Кононенко, Е.А. Пирязева, Е.В. Зотова, А.А. Буркин .....	4	276
Понизовская В.Б. см. К.В. Сазанова, В.Б. Понизовская .....	5	357
Попкова Е.Г. см. О.В. Воронко, Е.Г. Попкова, Е.Ю. Благовещенская .....	4	294
Попов Е.С. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Попов Е.С. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Попов Е.С. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Попов Е.С. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Попов Е.С. см. Л.Б. Калинина, Е.А. Паломожных, Е.С. Попов .....	6	419
Попыванов Д.В. см. А.А. Широких, Д.В. Попыванов, И.Г. Широких .....	1	45
Потапов К.О. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Псурцева Н.В. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Ребриев Ю.А., Богачева А.В., Бекер Х.Дж., Эберхард У., Кочунова Н.А., Котиранта Х., Попов Е.С., Сазанова Н.А., Ширяев А.Г., Ширяева О.С., Звягина Е.А. “Новые для регионов Дальнего Востока России виды макромицетов. 2”: рисунки редких и интересных видов .....	1	68
Ребриев Ю.А. Идентификационный ключ к родам и некоторым видам гастеромицетов России ....	3	178
Ребриев Ю.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Ребриев Ю.А., Богачева А.В., Булах Е.М., Бухарова Н.В., Ерофеева Е.А., Попов Е.С., Псурцева Н.В., Сазанова Н.А., Ширяев А.Г., Звягина Е.А. Новые для регионов Российского Дальнего Востока виды макромицетов. 3 .....	4	254
Ребриев Ю.А. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Рошупкина Е.В. см. Г.М. Мелькумов, Е.В. Рошупкина, Е.А. Мелькумова .....	3	214
Сазанова К.В., Осмоловская Н.Г., Власов Д.Ю. Продукция органических кислот грибами: метаболизм, физиологическая и экологическая значимость .....	4	231
Сазанова К.В., Понизовская В.Б. Метаболитный профиль микромицета <i>Lecanicillium gracile</i> , выделенного из штукатурки и белого камня .....	5	357
Сазанова Н.А. см. Е.А. Звягина, Н.А. Сазанова .....	1	16
Сазанова Н.А. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Сазанова Н.А. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Сазанова Н.А. см. Е.А. Звягина, Н.А. Сазанова, Т.М. Бульонкова .....	5	332
Сайттак А. см. А. Ла Роза, В. Агаменноне, А. Сайттак, Э. Амбросио .....	1	31
Саркина И.С. см. И.В. Ставищенко, И.С. Саркина .....	6	452
Саркина И.С. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Семенова Т.А. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Симонов Е.П. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114

	№	Стр.
Смирнов В.Ф. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Смирнова О.Н. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Соколова Г.Д., Будынков Н.И., Целипанова Е.Е., Глинушкин А.П. Разнообразие видов в комплексе <i>Fusarium solani</i> ( <i>Neocosmospora</i> ) и их патогенность для растений и человека .....	1	3
Ставишенко И.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Ставишенко И.В., Саркина И.С. Новые для Крымского полуострова виды афиллофороидных грибов .....	6	452
Стороженко В.Г. Дереворазрушающие грибы в структуре лесов еловых формаций Европейской России .....	2	96
Судникова В.П. см. Ю.В. Зеленева, И.Б. Аблова, В.П. Судникова, Л.М. Мохова, Э.А. Конькова ...	6	441
Сытин А.К. см. И.В. Змитрович, А.К. Сытин .....	4	302
Сытин А.К. см. И.В. Змитрович, А.К. Сытин .....	6	448
Хамраева З.Т. см. З.Р. Ахмедова, Т.Э. Шонахунов, И.Т. Гулямова, З.Т. Хамраева .....	4	264
Химич Ю.Р. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Хлопунова Л.Б. см. И.А. Казарцев, М.М. Гомжина, Е.Л. Гасич, Л.Б. Хлопунова, Ф.Б. Ганнибал ....	2	127
Хотамов М.М. см. И.Г. Ахмеджанов, М.М. Хотамов .....	2	105
Хютти А.В. см. Н.В. Мироненко, А.В. Хютти, Е.И. Кырова, Д.А. Белов, О.С. Афанасенко .....	4	284
Цветкова Ю.В., Кузнецова А.А. Выявление антракноза земляники и методы диагностики возбудителей заболевания .....	2	140
Целипанова Е.Е. см. Г.Д. Соколова, Н.И. Будынков, Е.Е. Целипанова, А.П. Глинушкин .....	1	3
Шадрин Д.М. см. М.А. Паламарчук, Д.В. Кириллов, Д.М. Шадрин .....	3	171
Шаров В.В. см. В.В. Бирюков, И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, Н.В. Орешкова, В.В. Шаров, Е.П. Симонов, Д.А. Кузьмин, К.В. Крутовский .....	2	114
Шахова Н.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Шахова Н.В. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Л.Б. Калинина и др. ....	6	383
Широких А.А., Попыванов Д.В., Широких И.Г. Эффекты ассоциированных с миксомицетами бактерий при выращивании съедобного лекарственного гриба <i>Hericium erinaceus</i> .....	1	45
Широких И.Г. см. А.А. Широких, Д.В. Попыванов, И.Г. Широких .....	1	45
Ширяев А.Г. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Ширяев А.Г. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Е.М. Булах и др. ....	4	254
Ширяев А.Г. см. Т.С. Булгаков, А.Г. Ширяев .....	5	323
Ширяев А.Г., Змитрович И.В., Ширяева О.С. Новые и редкие виды агарикомицетов на древесных интродуцентах в г. Екатеринбурге (Россия) .....	5	350
Ширяева О.С. см. А.Г. Ширяев, И.В. Змитрович, О.С. Ширяева .....	5	350
Ширяева О.С. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Шишигин А.С. см. С.В. Волобуев, С.Ю. Большаков, Ю.Р. Химич и др. ....	3	220
Шишкин А.Ю. см. В.А. Карпов, В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.А. Захарова, А.Ю. Шишкин, А.Е. Иванова, Т.А. Семенова .....	3	185
Шонахунов Т.Э. см. З.Р. Ахмедова, Т.Э. Шонахунов, И.Т. Гулямова, З.Т. Хамраева .....	4	264
Эберхард У. см. Ю.А. Ребриев, А.В. Богачева, Х.Дж. Бекер и др. ....	1	68
Якуба Г.В. см. А.И. Насонов, Г.В. Якуба, Е.В. Лободина .....	5	374