———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ **СТАТЬИ** —

УЛК 582.28:574

ГРИБЫ В ДОННЫХ ГРУНТАХ ЧУКОТСКОГО МОРЯ

© 2019 г. Е. Н. Бубнова^{1, *}, О. П. Коновалова¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва 119234, Россия *e-mail: katya.bubnova@wsbs-msu.ru
Поступила в редакцию 24.02.2018 г.
После доработки 21.06.2018 г.
Принята к публикации 18.10.2018 г.

Впервые определена численность и изучено таксономическое разнообразие микобиоты в донных грунтах Чукотского моря. В ходе работ по программе "RUSALCA-2012" в конце августа—начале сентября 2012 г. с глубины 44—110 м были отобраны 22 образца грунта. Грибы из образцов выделяли в чистую культуру на агаризованные питательные среды (соленость — 35‰, температура — 6°С). Виды идентифицировали с помощью морфолого-культуральных и молекулярно-генетических методов на основе нуклеотидных последовательностей ITS1-ITS2 рДНК. Всего выделено 128 колоний мицелиальных грибов; из каждого образца объемом 1 см³ получено от 0 до 22 колоний. Общее морфологическое разнообразие составило 48 морфотипов, относящихся к 32 родам из 15 порядков аскомицетов и базидиомицетов. Аскомицеты преобладали как по численности, так и по разнообразию. Многие выделенные виды обнаружены в морских экосистемах впервые. Применение молекулярных методов позволило установить таксономическое положение стерильных изолятов, доля которых составила 13%. Среди них высоким разнообразием отличались порядки Pleosporales и Helotiales из аскомицетов.

Ключевые слова: морские грибы, аскомицеты, базидиомицеты, разнообразие, молекулярные методы, ITS, арктические моря, Чукотское море, донные грунты

DOI: 10.1134/S0134347519020025

В последнее время морская микология довольно активно и быстро развивается, но грибам арктических морей до сих пор уделяется мало внимания. С середины 19 века опубликовано немногим более 30 работ, в которых приведены результаты изучения грибов в морях Северного Ледовитого океана (Rämä et al., 2017). Исследования проводились в основном в европейском секторе Арктики. Для прибрежных морей Сибири известны лишь три работы: в одной опубликованы сведения о грибах в воде арктических морей, в том числе Карского и Лаптевых (Кирцидели и др., 2012), а в двух других — в донных грунтах отдельных районов Баренцева и Карского морей (Bubnova, 2010; Бубнова, Никитин, 2017). Культивируемая микобиота грунтов арктических морей обладает рядом характерных черт: низкой численностью грибных пропагул, большой долей неспороносящих культур, а также видов из родов Tolypocladium, Penicillium и Cladosporium (Bubnova, 2010; Бубнова, Никитин, 2017; Rämä et al., 2017). Доля стерильных изолятов таксономическое положение которых нельзя установить обычными морфолого-культуральными методами, может достигать 30-40%. Для их идентификации необходим молекулярногенетический анализ, который в работах по исследованию разнообразия микобиоты в донных грунтах арктических морей не использовался.

Цель настоящей работы — изучение разнообразия микобиоты в донных грунтах не исследованного ранее Чукотского моря с применением морфолого-культурального и молекулярно-генетического методов идентификации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования послужили 22 образца донных грунтов, отобранных с 30 августа по 13 сентября 2012 г. в Чукотском море в ходе рейса судна "Профессор Хромов" по программе "RUSALCA-2012" (рис. 1). Образцы отбирали на глубине от 44 до 110 м в двух районах: к северо-востоку от островов Врангеля и Геральд, а также в южной части моря ближе к Берингову проливу. Изученные грунты были представлены илами. Чукотское море характеризуется суровостью условий, относительно небольшим пресным стоком и заметным влиянием двух океанов — Северного Ледовитого и Тихого (Зенкевич, 1963; Marchenko, 2012).

Образцы для исследования отбирали из верхнего односантиметрового слоя донного грунта. Стерильным шприцем 3 раза брали по 1 см³ грунта,

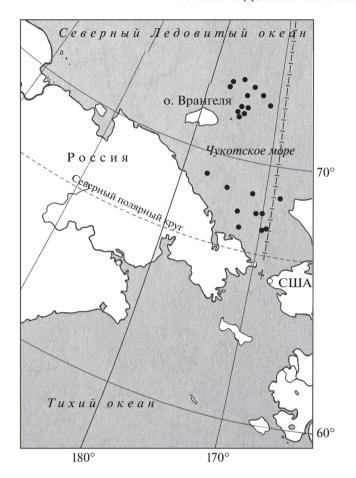


Рис. 1. Расположение точек отбора образцов.

который помещали в стерильный бумажный пакет; пакеты с образцами подсушивали при комнатной температуре. Посев проводили через 60 сут после заключительного отбора. Для выделения грибов весь грунт в образце перемешивали, затем высевали по 1 см³ грунта от каждого образца. Посевы проводили по методу Варкупа (Carlile et al., 2001) на среду сусло—агар (общее содержание сахаров — 0.2%, соленость — 35%, ампициллин — 1 г/л). Образцы 2 мес. инкубировали при температуре 6°С, после этого выделяли чистые культуры.

Первоначальную идентификацию проводили по морфолого-культуральным признакам в чистой культуре (Carlile et al., 2001). Кроме идентифицированных таким образом культур в исследованных образцах довольно многочисленными были стерильные и не подходящие под описания известных видов морфотипы.

Для молекулярно-генетического анализа использованы представители всех неидентифицированных по морфолого-культуральным признакам морфотипов. Образцы ДНК выделяли из 40 чистых культур с помощью набора Diatom Pro (Isogen, Moscow). Полимеразную цепную реакцию области ITS1-5.8S-ITS2 проводили с использова-

нием набора ScreenMix (Evrogen, Mocква), а также праймеров ITS1-F и ITS4 (http://lutzonilab.org/nuclear-ribosomal-dna/) на термоцикле Verity thermocycler (Applied Biosystems, США). Продукты амплификации секвенировали в двух направлениях по протоколу BigDye с использованием секвенатора ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США). Для обработки результатов секвенирования, выравнивания и построения филогенетических деревьев использовали пакет программ CodonCodAligner (www.codoncod.org). Принадлежность полученных последовательностей определяли с помощью программы BLAST (blast.ncbi.nih.gov). В GenBank депонировано 12 последовательностей ITS1-5.8S-ITS2 изолятов, идентифицированных до уровня вида; им присвоены номера с КР739870 по КР739881. Принадлежность остальных последовательностей определяли с помощью построения филогенетических деревьев: два варианта для области ITS1-ITS2, соответственно для Ascomycota и Basidiomycota, были построены с помощью MUSCLE (Edgar, 2004) со статистической поддержкой методом Neighbor-Joining (Felsenstein, 1985) в программе MEGA 6.0 (Tamura et al., 2004, 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Численность выделенных грибов

Всего было выделено 128 колоний мицелиальных грибов (табл. 1). Из одного образца получено от 0 до 22 колоний, из большинства образцов — не более 10 колоний, а из нескольких образцов — по одной колонии.

Морфологическое разнообразие

По морфологическим критериям выделено 48 морфотипов (табл. 1). Из них идентифицированы 17: большинство было представлено анаморфными спороношениями аскомицетов из родов Penicillium, Cladosporium, Tolypocladium, Aspergillus, Fusicolla, Pseudogymnoascus, Lecanicillium и Trichoderma; только вид Pseudeurotium hygrophilum образовывал телеоморфное спороношение. К идентифицированным этим методом морфотипам относились 72 выделенных изолята. Самым частым и обильным был род *Penicillium* — 44 колонии в 19 образцах. Чаще других встречались P. glabrum (21 колония в 10 образцах), P. aurantiogriseum (13 колоний в девяти образцах) и *P. nalgiovense* (6 колоний в четырех образцах). Видов рода Cladosporium (C. cladosporioides и С. macrocarpum) выделено 12 колоний в шести образцах, вида Aspergillus flavus — 8 колоний в трех образцах. Остальные виды встречались реже, а 11 из них – лишь как единичные колонии в отдельных образцах.

Остальные 56 изолятов относились к 31 неидентифицированному морфотипу (табл. 1). Из них 16 были стерильными; у шести обнаружены половые

Таблица 1. Таксономический состав выделенных грибов

Морфологическая идентификация	Генетическая идентификация	BLAST	Количество	
			колоний	образцо
ASCOMYCOTA				
PEZIZOMYCOTINA				
Incertae sedis				
Mycelia sterilia 14	Slimacomyces isiolus (R.T. Moore) G.Z. Zhao	99	1	1
DOTHIDEOMYCETES				
Botryosphaeriales				
Botryosphaeriaceae		1	1	1
Ascomycete gen. sp. 3	Lasiodiplodia pseudotheobromae A.J.L. Phillips		1	1
Capnodiales				
Cladosporiaceae		1	ı	1
Cladosporium cladosporioides (Fresen.) G.A. de Vries			6	4
C. macrocarpum Preuss			6	3
Pleosporales	•	·	•	•
Mycelia sterilia 5	Fungal sp. MG20Sn7L3x	89	1	1
Phoma cf. eupyrena	Uncultured fungus clone CMH252	100	1	1
Mycelia sterilia 10	Uncultured fungus clone S238	99	1	1
Mycelia sterilia 11	Uncultured fungus clone S352	100	1	1
Mycelia sterilia 12	Uncultured soil fungus clone RS5M5c23P	94	1	1
Didymellaceae	•	ı	1	1
Phoma sp.	Phoma herbarum Westend.	100	1	1
Lophiostomataceae		•	•	•
Mycelia sterilia 9	Lophiostoma cynaroidis Marincowitz, M.J. Wingf. & Crous	99	1	1
Pleosporaceae				
Alternaria cf. alternata	Alternaria alternata (Fr.) Keissl.	99, 100	2	2
Dothideomycetes Incertae sedis				
Pseudoperisporiaceae				
Mycelia sterilia 3	Nematostoma parasiticum (R. Hartig) M.E. Barr	96	2	1
EUROTIOMYCETES				
Eurotiales				
Гrichocomaceae		1	ı	1
Aspergillus flavus Link			8	3
Penicillium atramentosum Thom			1	1
P. aurantiogriseum Dierckx			13	9
P. chermesinum Biourge			1	1
P. dierckxii Biourge			1	1
P. glabrum (Wehmer) Westling			21	10
P. nalgiovense Laxa			6	4
P. thomii Maire			1	1

Таблица 1. Продолжение

Морфологическая	Генетическая идентификация	BLAST	Количество	
идентификация	тепети теская идентификация	BL/ 151	колоний	образцов
LEOTIOMYCETES				
Thelebolales				
Thelebolaceae				
Ascomycete gen. sp. 1	Thelebolus microsporus (Berk. & Broome) Kimbr.		1	1
Ascomycete gen. sp. 2	Thelebolus stercoreus Tode	98	1	1
Helotiales		•	i	
Mycelia sterilia 2	Cadophora sp.	92	1	1
Mycelia sterilia 8	Cyathicula sp.	94	2	1
Mycelia sterilia 16	Hymenoscyphus sp. FC-2727	99	1	1
Mycelia sterilia 13	Helotiales sp. WMM-2012c isolate 24m	96	1	1
Mycelia sterilia 15	Lachnum sp. FR-F3	95, 96	5	2
Mycelia sterilia 7	Uncultured <i>Lachnum</i> clone R2_17	96	1	1
Mycelia sterilia 4	Helotiales sp. MU-2009-3	94, 97	1	1
Leotiomycetes Incertae sedis				
Myxotrichaceae				
Pseudogymnoascus pannorum (Link) Minnis & D.L. Linder			1	1
Pseudeurotiaceae		1	ı	1
Pseudeurotium hygrophilum (Sogonov, W. Gams, Summerb. Schroers) Minnis D.L. Linder			1	1
SORDARIOMYCETES		1		1
Coniochaetales				
Coniochaetaceae				
Anamorphic gen. sp. 2	Coniochaeta ligniaria (Grev.) Massee	ĺ	1	1
Hypocreales			•	1 -
Cordycipitaceae				
Lecanicillium lecanii (Zimm.) Zare & W. Gams			1	1
Нуросгеасеае		1	l	I
Trichoderma viride Pers.			1	1
Nectriaceae		I	l	1
Fusicolla aquaeductuum (Radlk. & Rabenh.) Gräfenhan, Seifert & Schroers			1	1
Ophiocordicipitaceae	I	1	I	1
Tolypocladium cylindrosporum W. Gams			2	2
T. inflatum W. Gams			1	1
Microascales	I	1	I	ĺ
Microascaceae				
Wardomyces sp. 1	Pseudoscopulariopsis hibernica (A. Mangan) Sandoval-Denis, Gené & Cano	97, 98	7	3

Таблица 1. Окончание

Морфологическая	F	BLAST	Количество	
идентификация	Генетическая идентификация	DLASI	колоний	образцов
Hypocreales Incertae sedis				
Acremonium-like anam. sp. 2	Acremonium charticola (Lindau) W. Gams	90	1	1
Sordariales	1	•	I	1
Chaetomiaceae				
Chaetomium sp.	Chaetomium globosum Kunze ex Fr.	91, 95, 98	3	3
Ascomycete gen. sp. 4	Chaetomium sp. E02	87, 91, 94	3	3
Ascomycete gen. sp. 5	Chaetomium sp. 6/97-55	94	1	1
Xylariales	1	1	I	1
Acremonim-like anam. sp. 1	Xylariales sp. 1	91	3	2
BASIDIOMYCOTA	1	1	<u> </u>	Ī
AGARICOMYCETES				
Agaricales				
Mycelia sterilia 6	Psilocybe sp. KR22	95	1	1
Cantharellales	1	1	<u> </u>	Ī
Beauveria-like anam. sp. 1	Sistotrema raduloides (P. Karst.) Donk	99	1	1
Polyporales	ı	I	1	1
Mycelia sterilia 1	Bjerkandera adusta (Willd.) P. Karst.	99	5	3
Anamorphic gen. sp. 1	Trametes versicolor (L.) Lloyd	99	1	1

Примечание. BLAST-% сходства полученных последовательностей с наиболее близкими последовательностями из базы GenBank (sequence similarity).

спороношения аскомицетов, у двух — анаморфные пикнидиальные спороношения и у семи — спороношения, похожие на анаморфы гифомицетного типа. Несмотря на то, что численность неидентифицированных изолятов была ниже, чем известных видов, их морфологическое разнообразие было выше.

Молекулярная идентификация и таксономическое разнообразие

С помощью молекулярно-генетических методов идентифицировано 40 культур, относящихся к 31 сомнительному морфотипу. Соответствия в GenBank на уровне вида были найдены только для 14 (рис. 2, 3). Большинство идентифицированных до вида культур, кроме плеоспорового аскомицета Nematostoma parasiticum (Herpotrichia parasitica) и полипорового базидиомицета Bjerkandera adusta, имели какие-либо спороношения (табл. 1). Для 17 морфотипов соответствие найдено только на уровне рода или даже порядка. В некоторых случаях обнаружены соответствия филотипам, неизвестным ранее в виде морфотипов. Морфологически неидентифицированные морфотипы, как правило, были представлены единичными колониями в отдельных образцах, но иногда — несколькими колониями в 2-3 образцах. Чаще других встречались анаморфный аскомицет *Pseudoscopulariopsis hibernica* (7 колоний в трех образцах), базидиомицет *B. adusta* (5 колоний в трех образцах), *Lachnum* sp. FR-F3 (5 колоний в двух образцах), а также два вида рода *Chaetomium* (*C. globosum* и *Chaetomium* sp. E02) — всего 6 колоний в пяти образцах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Численность выделенных грибов

Полученные нами значения численности пропагул грибов приблизительно соответствуют данным, известным для удаленных от берега районов Северного Ледовитого океана (Bubnova, 2010; Бубнова, Никитин, 2017). Ближе к берегу численность пропагул грибов обычно выше (Bubnova, 2010), как и в донных морских грунтах более теплых областей (Согонов, Марфенина, 1999; Худякова и др., 2000; Пивкин и др., 2005; Бубнова, 2009). Большая численность пропагул грибов в океане связана с близостью к берегу и с наличием постоянного пресного стока. Образцы для нашего исследования были отобраны на некотором удалении от берега, а пресный сток в Чукотское море меньше, чем в другие арктические моря. Поэтому низкая численность грибных пропагул была предполагаемой. Неожиданным стало отсут-

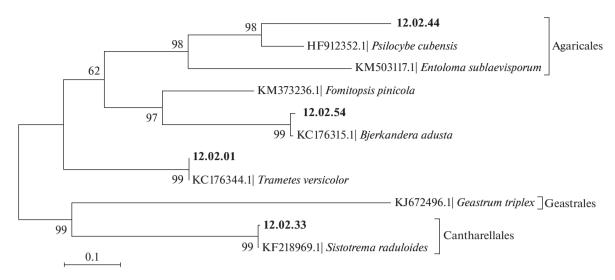


Рис. 2. Филогенетическое древо базидиомицетов, построенное для исследованных изолятов по последовательностям генов ITS1-5.8S-ITS2.

ствие заметного градиента численности грибных пропагул в направлении север—юг. Мы полагали, что южный район будет богаче за счет обмена с Тихим океаном через Берингов пролив (Зенкевич, 1963; Johansen, Hytteborn, 2001). Известно, что моря умеренной зоны Тихого океана богаты грибами (Худякова и др., 2000; Пивкин и др., 2005). Но, вероятно, принос материала, в частности спор грибов, в южный район Чукотского моря не столь значителен, как предполагалось. Другим объяснением может служить низкая выживаемость приносимых с юга грибных пропагул в суровых условиях Арктики.

Таксономическое разнообразие микобиоты

В целом картина идентифицированной морфологическими методами микобиоты характерна для донных грунтов северных морей (Согонов, Марфенина, 1999; Бубнова, 2009; Вибпоча, 2010; Бубнова, Никитин, 2017), в том числе присутствие большого количества стерильных и сомнительных культур (Rämä et al., 2017).

С помощью морфолого-культуральных и молекулярных методов обнаружено 32 вида грибов. В таксономической структуре выделенной микобиоты присутствовали представители двух отделов: базидиомицеты (3 порядка из одного класса) и аскомицеты (11 порядков из четырех классов), а также одна группа неясного таксономического положения. Аскомицеты преобладали как по числу выделенных изолятов, так и по количеству морфотипов. Наиболее обильными были виды порядка Eurotiales, незначительно уступали им виды порядков Helotiales и Pleosporales. По разнообразию также лидировал порядок Eurotiales, заметное разнообразие демонстрировали порядки

Helotiales и Pleosporales, а также Hypocreales и Sordariales. Обнаружение высокого разнообразия плеоспоровых и хелоциевых, к которым относится большое число стерильных и неидентифицированных изолятов, связано с применением молекулярных методов. Вероятно, хелоциевые играют значительную, но пока недооцененную роль в арктических морских экосистемах. Они, как правило, редки в морфолого-культуральных исследованиях, но применение молекулярных методов показывает их относительно высокое таксономическое разнообразие и численность (Zhang et al... 2015; Rämä et al., 2017). Представители отдела Basidiomycota - минорный компонент общего видового комплекса, обнаруженный лишь с помощью молекулярных методов.

Аутэкология выделенных грибов

Все обнаруженные нами грибы можно разделить на две большие группы: это обычные в различных морских экотопах и упоминаемые в многочисленных публикациях по исследованию морской микобиоты виды, а также странные "гости", впервые найденные в океане. К первой группе относятся в основном обильно спороносящие анаморфы аскомицетов, идентифицированные по морфологическим признакам. Все они типичные обитатели почв и других субстратов (Domsch et al., 1993), часто встречаются и в морских экотопах (Согонов, Марфенина, 1999; Худякова и др., 2000; Пивкин и др., 2005; Бубнова, 2009; Bubnova, 2010; Кирцидели и др., 2012); некоторые из них выявлены молекулярными методами (Nagano et al., 2010; Rämä et al., 2017). Интересно, что большинство этих грибов не имеет явной приуроченности к холодным областям, возможно, их поступление

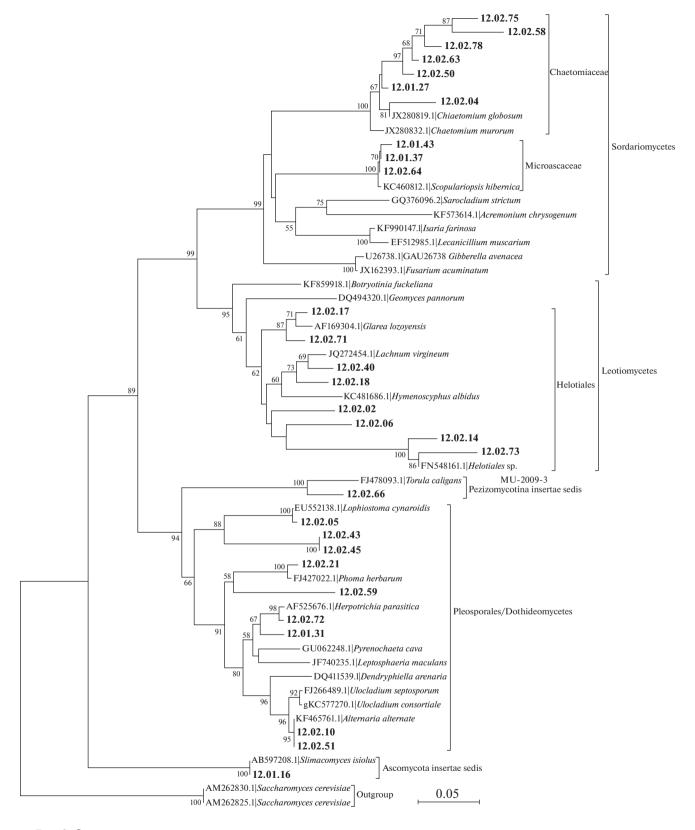


Рис. 3. Филогенетическое древо аскомицетов, построенное для исследованных изолятов по последовательностям генов ITS1-5.8S-ITS2.

Таблица 2. Сведения о грибах, идентифицированных с помощью молекулярных методов

Вид	Распространение	Литература	Hомер в GenBank
	ASCOMYCOT] A	
Slimacomyces isiolus	Растительные остатки (Новая Гвинея, Китай)	Moore, 1957; Zhao et al., 2007	AB597208
	Сосновый опад (Хоккайдо, Япония)	GenBank, не опубликовано (Hirose D., Tokumasu S., Ogawa Y.)	AB620068
Lasiodiplodia oseudotheobromae	Паразит на различных деревьях: цитрусовые, акация, кофе (Нидерланды, Коста-Рика); <i>Grevillea robusta</i> , Кения	Alves et al., 2008; GenBank, не опубликовано (Njuguna J.W., Barklund P., Ihrmark K., Stenlid J.)	FJ904834
Nematostoma parasiticum	Паразит на хвойных (Северная Африка, Польша, Германия)	Rossman et al., 2002; Kowalski, Andruch, 2010	AF525676
Lophiostoma cynaroidis	Паразит цветковых в кустарниковых экосистемах типа "финбош" (Южная Африка)	Marincowitz et al., 2008	EU552138
Fungal sp. MG20Sn7L3x	Эндофит гипсофильных растений	Porras-Alfaro et al., 2011	KF752699
Uncultured fungus clone CMH252	Внутренняя среда помещений (Канзас, США)	Rittenour et al., 2014	KF800343
Uncultured fungus clone S238	Воздушная пыль	Fröhlich-Nowoisky et al., 2009	FJ820726
Uncultured fungus clone S352	Воздушная пыль	Fröhlich-Nowoisky et al., 2009	FJ820839
Uncultured soil fungus clone RS5M5c23P	Почва полузасушливых лугов	Porras-Alfaro et al., 2011	EU479983
Cadophora sp. AU_BD06	Неизвестно	GenBank, не опубликовано (Griffith G.)	JN995648
Cyathicula sp. 34_100A	Озимая пшеница Triticum aestivum	GenBank, не опубликовано (M. Grudzinska-Sterno, A. Djurle, J. Yuen, J. Stenlid)	KC989059
Hymenoscyphus sp. FC-2727	Неизвестно	GenBank, не опубликовано (Zhao Y.J., Hosoya T., Baral H.O., Hosaka K., Kakishima K.)	AB705232
Helotiales sp. WMM-2012c isolate 24m	Плато Цинхай-Тибет, психро- фильные сообщества	GenBank, не опубликовано (Wang M.)	JX001621
Lachnum sp. FR-F3	Deschampsia flexuosa, субарктические острова	GenBank, не опубликовано (Poosakkannu A., Nissinen R., Kytoviita MM.)	KJ529001
Uncultured <i>Lachnum</i> clone R2_17	Озимая пшеница Triticum aestivum	GenBank, не опубликовано (Grudzinska-Sterno M., Djurle A., Yuen J., Stenlid J.)	KC753434
Helotiales sp. MU-2009-3	Листья бука Fagus sylvatica	Unterseher, Schnittler, 2010	FN548161
Thelebolus microsporus	Птичий помет, птичьи базары, вероятно, паразит. Психрофил (Антарктика)	Leotta et al., 2002; De Hoog et al., 2005	AY942191.1
Thelebolus stercoreus	Птичий помет, птичьи базары. Психрофил (Антарктика)	De Hoog et al., 2005	AY942194
Scopulariopsis hibernica	Почвы различных регионов	Sandoval-Denis et al., 2016	FJ946484

Таблица 2. Окончание

Вид	Распространение	Литература	Номер в GenBank
Chaetomium sp. E02	Семена Puccinellia distans	GenBank, не опубликовано	KC867277
Chaetomium sp. 6/97–55	Корни, стебли, листья обыкновенного тростника <i>Phragmites</i> australis	Wirsel et al., 2001	AJ279466
Coniochaeta lignaria	Паразит или эндофит древесины	Damm et al., 2010	AJ496242
BASIDIOMYCOTA	'	·	I
Psilocybe sp. KR22	Корни Pinus sylvestris	Menkis, Vasaitis, 2011	HM036648
Sistotrema raduloides	Сапротроф на древесине (Финляндия)	Kotiranta, Larsson, 2013	KF218969
Bjerkandera adusta	Обычный в почве и на древесине; обнаружен в антарктических почвах	Thorn et al., 1996; GenBank, не опубликовано (Vasilenko et al.)	MF120203

Примечание. Сведения об идентифицированных видах приведены по статьям, ссылка на которые имеется в GenBank. Кроме того, если о распространении вида есть обзорные сведения в литературе, то они также приводятся. Для филотипов, идентифицированных на уровне рода или порядка, приведены сведения только из GenBank.

связано не с речным стоком, а с течением из Тихого океана.

Вторая группа — это грибы, выделенные в основном в виде стерильных изолятов и идентифицированные молекулярными методами (табл. 2). Информация о большинстве из них скудна, а география распространения широкая и неоднородная; некоторые ранее были известны только в виде филотипов из молекулярных исследований. Многие из этих грибов связаны с высшими растениями — как ксилотрофы, паразиты или эндофиты (табл. 2). Возможно, именно растительные остатки (от фрагментов древесины до микроскопических обрывков травы и листьев) обеспечивают возможность столь дальних путешествий данных грибов через Тихий океан, от Антарктики и Австралии до Арктики. Скорее всего, именно Тихий океан мог стать источником этих интересных видов. В настоящее время слишком мало информации о биоразнообразии микобиоты в разных географических точках и много изолятов, не соответствующих ни одному из описанных видов, поэтому ареалы обнаруженных грибов кажутся разорванными.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что микобиота донных грунтов сурового арктического Чукотского моря несет в себе черты, характерные для изученных ранее арктических морей. Это крайне низкая численность грибных пропагул, обилие представителей рода *Penicillium* и неспороносящих изолятов. С помощью молекулярно-генетических методов определено систематическое положение неспороносящих и других сомнительных культур, что существенно расширило представление о таксономической структуре изученной микобиоты. В частности, были обнаружены представители групп

Вазіdіотусота, а также Pleosporales и Helotiales из аскомицетов, которые были весьма разнообразны. Интересно, что заметная часть идентифицированных грибов известна из разных местообитаний от Антарктиды и Австралии до Китая и Японии, но неизвестна из Арктики. Исходя из этого, можно предположить, что течение из Тихого океана оказывает влияние на микобиоту арктических морей, обогащая ее. Некоторые из принесенных видов могут сохраняться и, возможно, развиваться в условиях Арктики.

Авторы выражают глубокую признательность коллегам, собравшим материал для этой работы: к. г. н., н. с. А. Босину и н. с. А. Колеснику из Тихоокеанского океанологического института ДВО РАН (Владивосток), а также д. б. н., с. н. с. К. Кособоковой из Института океанологии РАН (Москва).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-02722а, морфологическая идентификация культур, частично — молекулярная идентификация и обработка) и РНФ (проект 14-50-00029, частично — молекулярная идентификация и обработка).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бубнова Е.Н. Грибы донных грунтов Кандалакшского залива Белого моря // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. Вып. 4. С. 4—11.

Бубнова Е.Н., Никитин Д.А. Грибы в донных грунтах Баренцева и Карского морей // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 5. С. 366—371.

Зенкевич Л.А. Биология морей СССР. М.: Изд-во АН СССР. 1963. 739 с.

Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П. и др. Распространение терригенных микромицетов в

- водах арктических морей // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. Вып. 5. С. 306—310.
- Пивкин М.В., Худякова Ю.В., Кузнецова Т.А. и др. Грибы аквапочв прибрежных акваторий Японского моря в южной части Приморского края // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. Вып. 6. С. 50—61.
- Согонов М.В., Марфенина О.Е. Особенности микобиоты приморских маршей Кандалакшского залива Белого моря // Вестн. МГУ. Сер. 16 (Биология). 1999. № 3. С. 42—47.
- Худякова Ю.В., Пивкин М.В., Кузнецова Т.А., Светашев В.И. Грибы грунтов Японского моря (российское побережье) и их биологически активные метаболиты // Микробиология. 2000. Т. 69. № 5. С. 722—726.
- Alves A., Crous P.W., Correia A., Philips A.J.L. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in Lasiodiplodia theobromae // Fungal Diversity. 2008. V. 28. P. 1–13.
- Bubnova E.N. Fungal diversity in bottom sediments of the Kara Sea // Bot. Mar. 2010. V. 53. № 6. P. 595–600.
- Carlile M.J., Watkinson S.C., Gooday G.W. The fungi: 2nd ed. Academic Press. 2001. 603 p.
- Damm U., Fourie P.H., Crous P.W. Coniochaeta (Lecythophora), Collophora gen. nov. and Phaeomoniella species associated with wood necroses of Prunus trees // Persoonia. 2010. V. 24. P. 60–80.
- De Hoog G.S., Göttlich E., Platas G. et al. Evolution, taxonomy and ecology of the genus *Thelebolus* in Antarctica // Stud. Mycol. 2005. V. 51. P. 33–76.
- *Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H.* Compendium of soil fungi. Eching: IHW-Verlag. 1993. 1007 p.
- Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // Nucleic Acids Res. 2004. V. 32. № 5. P. 1792–1797.
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // Evolution. 1985. V. 39. P. 783–791.
- Fröhlich-Nowoisky J., Pickersgill D.A., Després V.R., Pöschl U. High diversity of fungi in air particulate matter // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2009. V. 106. № 31. P. 12814—12819.
- Johansen S., Hytteborn H. A contribution to the discussion of biota dispersal with drift ice and driftwood in the North Atlantic // J. Biogeogr. 2001. V. 28. P. 105–115.
- Kotiranta H., Larsson K.-H. Sistotrema luteoviride sp. nov. (Cantharellales, Basidiomycota) from Finland // Acta Mycol. 2013. V. 48. № 2. P. 219–225.
- Kowalski T., Andruch K. Herpotrichia needle browning on Abies alba in the Lesko forest district stands: disease intensity and associated fungi // Phytopathologia. 2010. V. 55. P. 21–34.
- Leotta G.A., Paré J.A., Sigler L. et al. Thelebolus microsporus mycelial mats in the trachea of wild brown skua (Catharacta antarctica lonnbergi) and South Polar skua (C. maccormicki) carcasses // J. Wildl. Dis. 2002. V. 38. № 2. P. 443–447.
- *Marchenko N.* Russian arctic seas: navigation conditions and accidents. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag. 2012. 251 p.

- Marincowitz S., Crous P.W., Groenewald J.Z., Wingfield M.J. Microfungi occurring in Proteaceae in the fynbos // CBS Biodiversity Ser. Utrecht, The Netherlands. 2008. V. 7. P. 1–166.
- Menkis A., Vasaitis R. Fungi in roots of nursery grown Pinus sylvestris: ectomycorrhizal colonisation, genetic diversity and spatial distribution // Microb. Ecol. 2011. V. 61. № 1. P. 52–63.
- Moore R.T. Index to the Helicosporae: addenda // Mycologia. 1957. V. 49. № 4. P. 580–587.
- Nagano Y., Nagahama T., Hatada Y. et al. Fungal diversity in deep-sea sediments the presence of novel fungal groups // Fungal Ecol. 2010. V. 3. P. 316—325.
- Porras-Alfaro A., Herrera J., Natvig D.O. et al. Diversity and distribution of soil fungal communities in a semiarid grassland // Mycologia. 2011. V. 103. № 1. P. 10–21.
- Rämä T., Hassett B.T., Bubnova E. Arctic marine fungi: from filaments and flagella to operational taxonomic units and beyond // Bot. Mar. 2017. V. 60. № 4. P. 433–452.
- Rittenour W.R., Ciaccio C.E., Barnes C.S. et al. Internal transcribed spacer rRNA gene sequencing analysis of fungal diversity in Kansas City indoor environments // Environ. Sci.: Processes Impacts. 2014. V. 16. № 1. P. 33–43.
- Rossman A.Y., Farr D.F., Castlebury L.A. et al. Setomelanomma holmii (Pleosporales, Phaeosphaeriaceae) on living spruce twigs in Europe and North America // Can. J. Bot. 2002. V. 80. № 11. P. 1209–1215.
- Sandoval-Denis M., Gené J., Sutton D.A. et al. Redefining Microascus, Scopulariopsis and allied genera // Persoonia. 2016. V. 36. P. 1–36.
- Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2004. V. 101. P. 11030–11035.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Thorn R.G., Reddy C.A., Harris D., Paul E.A. Isolation of saprophytic basidiomycetes from soil // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62. № 11. P. 4288–4292.
- Unterseher M., Schnittler M. Species richness analysis and ITS rDNA phylogeny revealed the majority of cultivable foliar endophytes from beech (Fagus sylvatica) // Fungal Ecol. 2010. V. 3. № 4. P. 366–378.
- Wirsel S.G.R., Leibinger W., Ernst M., Mendgen K.W. Genetic diversity of fungi closely associated with common reed // New Phytol. 2001. V. 149. № 3. P. 589–598.
- Zhang T., Wang N.F., Zhang Y.Q. et al. Diversity and distribution of fungal communities in the marine sediments of Kongsfjorden, Svalbard (High Arctic) // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. № 14524. P. 1–11.
- Zhao G.Z., Liu X.Z., Wu W.P. Helicosporous hyphomycetes from China // Fungal Diversity. 2007. V. 26. P. 313–524.

Fungi in Bottom Sediments of the Chukchi Sea

E. N. Bubnova^a and O. P. Konovalova^a

^aLomonosov Moscow State University, Moscow 119234 Russia

We present the first study on the quantity and diversity of the mycobiota in bottom sediments of the Chukchi Sea. During implementation of the RUSALCA-2012 program, 22 samples of bottom sediments from depths of 44–110 m were collected in late August—early September 2012. Fungi were isolated on agarized media (salinity 35‰, temperature 6°C). Species identification was performed by morphological-cultural and molecular-genetic methods based on the nucleotide sequences of ITS1-ITS2 rDNA. A total of 128 colonies of mycelial fungi were isolated, 0 to 22 propagules were obtained from each 1-cm³ sample. The overall diversity was represented by 48 morphotypes belonging to 32 genera in 15 orders of ascomycetes and basidiomycetes. Ascomycetes predominated both in number and diversity. A number of species were found in marine ecosystems for the first time. The taxonomic position of non-sporulating isolates (13% of the total) was established using molecular techniques. Among them, high diversity was observed in the orders Pleosporales and Helotiales (Ascomycota).

Keywords: marine fungi, Ascomycota, Basidiomycota, diversity, molecular methods, ITS, Arctic seas, Chukchi Sea, bottom sediments