

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ  
СТАТЬИ

МИКОЦИНОТИПИРОВАНИЕ ВИДОВ *CYBERLINDNERA*

© 2021 г. В. И. Голубев\*

Всероссийская коллекция микроорганизмов,  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пушино, 142290 Россия

\*e-mail: wig.zum@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.08.2020 г.

После доработки 14.09.2020 г.

Принята к публикации 29.09.2020 г.

Виды *Cyberlindnera* по чувствительности к микоцинам *Wickerhamomyces anomalus* распадаются на две группы, одна из которых включает гетероталлические виды с шляповидными аскоспорами, а другая — гомоталлические виды с сатурновидными аскоспорами. Типовой штамм вида, носители его синонимов и анаморф имеют идентичные реакции к микоцинам.

**Ключевые слова:** филогения, таксономия, микоцины, аскоспоры

**DOI:** 10.31857/S0026365621010067

Наименование рода *Cyberlindnera* (Kurtzman et al.) Minter (Minter, 2009) предложено взамен названия *Lindnera*, поскольку последнее уже было использовано. Предложение рода *Lindnera* (Kurtzman et al., 2008) полностью основано на результатах секвенирования четырех-пяти генов и включает виды, принадлежавшие ранее к родам *Pichia* Hansen и *Williopsis* Zender. Согласно результатам этого филогенетического анализа род *Lindnera* (= *Cyberlindnera*) распадается на две группы и, в целом, он весьма гетерогенен по многим фенотипическим признакам, в том числе таким, которые обычно используют на уровне рода, например, морфология аскоспор.

На таксономическую гетерогенность родов дрожжей могут указывать и результаты микоцинотипирования, поскольку виды монофилетических таксонов имеют, как правило, сходные реакции к микоцинам (киллер-токсинам), действие которых таксонспецифично, коррелируя со многими цитологическими и хемотаксономическими признаками (Голубев, 2012).

В настоящей работе миоцинотипирование осуществлено применительно к роду *Cyberlindnera* с использованием микоциногенных штаммов *Wickerhamomyces anomalus* (Голубев, 2015).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все использованные в работе штаммы дрожжей (табл. 1) поддерживаются во Всероссийской коллекции микроорганизмов (<http://www.vkm.ru>), вследствие чего аббревиатура, ВКМ Y-, перед номерами штаммов не приводится.

Тестирование чувствительности штаммов дрожжей к микоцинам *W. anomalus* проводили на глюкозо-пептонном агаре (глюкоза — 5; пептон — 2.5; дрожжевой экстракт — 2; агар — 20; г/л) с цитрат-фосфатным буфером (рН 4.5) и 3% NaCl. На поверхность ее наносили 0.05 мл суспензии (~10<sup>5</sup> клеток/мл) обследуемых 2–3-суточных культур *Cyberlindnera*, выращенных на сусло-агаре, тщательно растирали шпателем и затем штрихом наносили обильный инокулюм микоциногенных штаммов. Засеянные чашки инкубировали при комнатной температуре до появления роста газона. При формировании вокруг культур *Wickerhamomyces* зон подавления роста шириной несколько мм, обследуемые штаммы регистрировали как чувствительные, если она не превышала 1–2 мм — относили к слабо чувствительным, а при отсутствии ингибирования роста — к нечувствительным.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных 53 штаммов *W. anomalus* согласно внутривидовому и внутриродовому спектрам действия выявлено три группы с пятью подгруппами (Голубев, 2015). Члены подгруппы I-1 (10 штаммов) не обладали микоциногенной активностью, а подгруппы I-2 (пять штаммов) слабо ингибировали рост лишь единичных видов *Wickerhamomyces*. Все эти 15 штаммов не действовали на исследованные штаммы протестированных видов *Cyberlindnera*.

Остальные культуры *W. anomalus* проявляли антифунгальную активность против *Cyberlindnera*

**Таблица 1.** Типы чувствительности видов *Cyberlindnera* и филогенетически им родственных *Candida* spp. к микоцинам штаммов *Wickerhamomyces anomalus*

Виды, штаммы	Группы микоциногенных штаммов <i>W. anomalus</i>							
	II-3			III-4			III-5	
	2512 2513	150 152	148 153 <sup>T</sup>	154 <sup>T</sup>	160	170 <sup>T</sup>	147 174 1086 1905–1907 2037–2041	140–145 149, 151 155, 159 161–163 171 175, 177 1087 1431
<i>Cyb. bimundalis</i> 1407 <sup>T</sup> , 1408	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. freyschussii</i> 1454 <sup>T</sup> , 2421	+	C	+	+	+	+	+	+
<i>Cyb. rhodanensis</i> 277, 1604 <sup>T</sup> ( <i>Endomycopsis balearica</i> )	+	C	+	+	+	+	+	+
<i>Cyb. fabianii</i> 1405, 1406, 1450 <sup>T</sup> , 2557	C	C	C	+	+	+	+	+
<i>C. maritima</i> 2593 <sup>T</sup>	C	C	C	+	+	+	+	+
<i>C. vartiovaarae</i> 2625 <sup>T</sup>	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>Cyb. americana</i> 1409 <sup>T</sup>	–	–	C	+	+	+	+	+
<i>Cyb. veronae</i> 2163 <sup>A</sup>	–	–	C	+	+	+	+	+
<i>Cyb. petersonii</i> 1410 <sup>T</sup>	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Cyb. sargentensis</i> 2087 <sup>T</sup>	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Cyb. jadinii</i> 74 <sup>T</sup> ( <i>C. arborea</i> ), 768 <sup>T</sup> ( <i>Torulopsis utilis</i> var. <i>major</i> ), 1456 <sup>T</sup> ( <i>C. guilliermodii</i> var. <i>nitratophila</i> ), 1668, 2316, 2437	–	–	–	–	+	+	–	+
<i>Cyb. mrakii</i> 173 <sup>T</sup>	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>Cyb. saturnus</i> 1403 <sup>T</sup> ( <i>Hansenula coprophila</i> ), 2551 <sup>T</sup> ( <i>H. beijerinckii</i> ), 2552 <sup>NT</sup>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Cyb. suaveolens</i> 2990 <sup>T</sup>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Cyb. subsufficiens</i> 2220 <sup>T</sup>	–	–	–	–	–	–	–	–

Подчеркнуты гетероталлические виды *Cyberlindnera* с шляповидными аскоспорами, остальные – гомоталлические с сатурновидными аскоспорами. T – типовой, NT – неотиповой, A – авторский штамм вида или носителя синонима. “+” – чувствительные, “C” – слабо чувствительные, “–” – нечувствительные.

spp., значительно различаясь между собой диапазонами действия (табл. 1). Из них штаммы III-ей группы *W. anomalus* имели более широкий спектр ингибируемых ими видов *Cyberlindnera*, чем II-ой. Рецептором одного из фунгицидных микоцинов 5-ой подгруппы с молекулярной массой свыше 100 кДа служит  $\beta$ -1,6-D-глюкан (Farkas et al., 2012).

Подгруппы же, сформированные согласно спектрам внутри рода *Wickerhamomyces*, при тестировании *Cyberlindnera* spp. дополнительно обнаруживали неоднородность, незначительно отличаясь друг от друга по отдельным видам. Здесь необходимо подчеркнуть, что типовые штаммы видов, типовые штаммы носителей их синонимов и типовые штаммы анаморф идентичны по чувствительности к микоцинам, т.е. микоцинотипиро-

вание подтверждает как синонимику, так и телеоморф-анаморфные взаимосвязи *Cyberlindnera* spp.

Результаты микоцитотипирования конгруэнтны с данными филогенетического анализа: согласно им *Cyberlindnera* также распадается на две группы видов, бывшие ранее членами, соответственно, родов *Pichia* и *Williopsis*, а также их анаморфами в роде *Candida* Berkhout. Первые почти все оказались чувствительными к микоцинам III-ей и многие к микоцинам II-ой группы *W. anomalus*, тогда как вторые были устойчивы (табл. 1). Исключение составляет *Cyb. sargentensis*, чувствительный, в отличие от всех остальных бывших видов *Williopsis*, к микоцинам подгруппы III-4, а также *Cyb. mrakii*, чувствительный к микоцину одного из штаммов той же подгруппы.

Внимательное рассмотрение выявляемых при микоцитотипировании двух групп внутри рода *Cyberlindnera* обнаруживает, что они различаются также и по системам полового размножения: первая включает гетероталлические виды, а вторая гомоталлические (табл. 1), что, по-видимому, обусловлено их разной экологией (Дьяков, 1999). Гетероталлические виды ассоциированы преимущественно с насекомыми, а гомоталлические обычно обнаруживаются в гидроморфных почвах (Вустин, Бабьева, 1981).

Более того, указанные группы видов имеют еще и разную форму аскоспор: шляповидные у бывших *Pichia* и сатурновидные у бывших *Williopsis*. Поскольку для функционирования как систем полового размножения, так и формирования аскоспор (Neiman, 2005) задействовано большое количество генов, то данные характеристики *a priori* обладают весьма значительным таксономическим весом, применимыми для дефиниции таксонов не ниже родового уровня.

Таким образом, выявляемые как при филогенетическом анализе, так и при микоцитотипировании внутри *Cyberlindnera* группы видов следует, очевидно, рассматривать как самостоятельные роды.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вустин М.М., Бабьева И.П. Природные местообитания дрожжей родов *Williopsis* и *Zygowilliopsis* // Микробиология. 1981. Т. 50. С. 718–722.
- Голубев В.И. Микоцитотипирование // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. № 1. С. 3–13.
- Голубев В.И. Внутривидовая и внутривидовая антагонистическая активность *Wickerhamomyces anomalus* // Микробиология. 2015. Т. 84. С. 212–215.
- Golubev W.I. Intraspecific and intrageneric antagonistic activity of *Wickerhamomyces anomalus* // Microbiology (Moscow). 2015. V. 84. P. 190–193.
- Дьяков Ю.Т. Системы размножения грибов и их эволюция // Микология и фитопатология. 1999. Т. 33. № 3. С. 137–149.
- Farkas Z., Marki-Zay J., Kucsera J., Vagvolgyi Cs., Golubev W.I., Pfeiffer I. Characterization two different toxins of *Wickerhamomyces anomalus* (*Pichia anomala*) VKM Y-159 // Acta Biol. Hungarica. 2012. V. 63. P. 277–287.
- Kurtzman C.P., Robnett C.J., Basehoar-Powers E. Phylogenetic relationships among species of *Pichia*, *Issatchenkia* and *Williopsis* determined from multigene sequence analysis, and the proposal of *Barnettozyma* gen. nov., *Lindnera* gen. nov. and *Wickerhamomyces* gen. nov. // FEMS Yeast Res. 2008. V. 8. P. 939–954.
- Minter D.W. *Cyberlindnera*, a replacement name for *Lindnera* Kurtzman et al. nom. illegit. // Mycotaxon. 2009. V. 110. P. 473–476.
- Neiman A.M. Ascospore formation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2005. V. 69. P. 565–584.

## Mycocinotyping of *Cyberlindnera* Species

W. I. Golubev\*

All-Russian Collection of Microorganisms, Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia

\*e-mail: wig.zym@yandex.ru

Received August 4, 2020; revised September 14, 2020; accepted September 29, 2020

**Abstract**—According to their sensitivity to *Wickerhamomyces anomalus* mycocins, *Cyberlindnera* spp. may be subdivided into two groups, one comprising heterothallic species with hat-shaped ascospores and another containing homothallic ones with Saturn-shaped ascospores. Type strain of a species, its synonyms and anamorphs have identical reactions to mycocins.

**Keywords:** phylogeny, taxonomy, mycocins, ascospores