

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ПОЧВАХ ЧЕРНЕВОЙ ТАЙГИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© 2022 г. И. Ю. Кирцидели^{1,*}, Д. Ю. Власов^{1,2,**}, В. А. Ильюшин^{1,***},
Е. В. Абакумов^{2,3,****}, А. Л. Лapidус^{2,3,*****}

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376 Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Санкт-Петербург, Россия

³Центр биоинформатики и алгоритмической биотехнологии СПбГУ, 199034 Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: microfungi@mail.ru

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

***e-mail: v.a.iliushin@gmail.com

****e-mail: e.abakumov@spbu.ru

*****e-mail: a.lapidus@spbu.ru

Поступила в редакцию 20.11.2021 г.

После доработки 05.12.2021 г.

Принята к публикации 23.12.2021 г.

Черневая тайга – уникальная высокопродуктивная бореальная экосистема Западной Сибири. Изучен состав микромицетов в почвах черневой тайги (Новосибирская и Томская области) в сравнении с почвами олиготрофных сосняков. Выявлено 39 видов микромицетов преимущественно из отдела *Ascomycota*. В почвах черневой тайги выявлено 29 видов микроскопических грибов, тогда как в референтных почвах сосняков отмечено 18 видов микромицетов. Только в почвах черневой тайги отмечены виды *Cephalotrichum microsporum*, *C. nanum*, *Cordyceps farinosa*, *Penicillium dierckxii*, *P. purpurescens*, *Trichoderma viride*. Показано изменение численности, биомассы и видового состава почвенных микромицетов в зависимости от трофности почвы. Численность микромицетов составляет от 2 до 34 тыс. КОЕ/г (при использовании метода посева) и от 3.2 до 26.2 млн КОЕ/г (при использовании метода прямого микроскопирования). Биомасса микроскопических грибов в пробах почв черневой тайги колеблется от 0.082 до 0.965 мг/г почвы, тогда как в референтных почвах этот показатель был значительно ниже и составлял от 0.07 до 0.117 мг/г. Экспериментально показано, что большая часть изолятов, выделенных из почв черневой тайги, принимает участие в разложении целлюлозы и полисахаридов, а сравнительно небольшая доля видов может рассматриваться как деструкторы лигнина.

Ключевые слова: микробные сообщества, почвенные грибы, сосняки, тайга

DOI: 10.31857/S0026364822020076

ВВЕДЕНИЕ

Нетронутые природные экосистемы – это островки дикой природы, все компоненты которых взаимодействуют друг с другом. Черневая тайга – уникальная высокопродуктивная бореальная экосистема Западной Сибири (Lapidus, 2021), которую можно охарактеризовать как высокопродуктивное бореальное образование, ограниченное в своем распространении гипергумидными секторами нагорий, формирующихся в уникальных комбинациях биоклиматогенных и геогенных условий (Abakumov et al., 2020).

Черневая тайга включена в проект “Global 200”, цель которого выявить совокупность наземных, пресноводных, морских экотопов и регионов с исключительным биоразнообразием (Olsson et al., 2005). Аккумуляция биофильных элементов явля-

ется важнейшим свойством почв черневой тайги, с которым связан феномен гигантизма и крайне высокой продуктивности. Высокая интенсивность биологических процессов объясняется локальными гидротермальными и климатическими условиями, а также функциональной структурой сообществ живых организмов (Abakumov et al., 2020). Особенности черневой тайги связаны не только с климатическими условиями и почвенными характеристиками данной территории, но и с уникальными микробными сообществами, обнаруженными в почве и ризосфере растений (Rayko et al., 2021).

Рост и развитие растений тесно связано с почвенной микробиотой, которая поддерживает гомеостаз почвы, выполняя ключевые функции и активно участвуя в углеродном цикле. Органическое вещество почвы формируется преимуще-

ственно за счет активности микробного компонента (Simpson et al., 2007; Kleber, Johnson, 2010), а комплексы микромицетов играют заметную роль в этих процессах (Kevin et al., 2007).

Данное исследование – первая попытка анализа комплексов культивируемых почвенных микромицетов уникальных биоценозов черневой тайги.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор образцов. Сбор материала для микологического исследования проводили в июле–августе 2019 г. в Новосибирской и Томской областях. Почвенные пробы были представлены: 1) N1 – темно-серой почвой черневой тайги (Новосибирская обл.); 2) N2 – стратоземом темногумусовым (Новосибирская обл.); 3) N3 – серогумусовой почвой на эловых супесях (референтная почва олиготрофных сосняков, Новосибирская обл.); 4) T1 – темно-серой почвой черневой тайги (Томская обл.); 5) T2 – дерново-подзолистой почвой черневой тайги (Томская обл.); 6) T3 – дерново-элювоземом (референтная почва олиготрофных сосняков, Томская обл.). Пробы отбирали из верхних горизонтов почвы в биоценозах, которые не подвергались антропогенному воздействию. Детальная характеристика почвенных проб представлена в публикации Е.В. Абакумова с соавторами (Abakumov et al., 2020).

Выделение чистых культур грибов. Для получения чистых культур грибов использовали общепринятый метод серийных разведений с последующим высевом почвенной суспензии на агаризованные среды Чапека и Сабуро в 10-кратной повторности (Rareg, Thom, 1949; Vilay, 1982). Культивирование проводили при температурах 20°C и 5°C, в темноте. Для подавления роста бактерий в питательные среды добавляли антибиотик широкого спектра действия левомицетин (100 мг/л).

Идентификация изолированных культур микроскопических грибов. Чистые культуры были идентифицированы на основании культурально-морфологических признаков (Domsch et al., 2007 и др.) и/или результатов молекулярных исследований. Культуры, используемые для молекулярных исследований, выращивали на среде Чапека при 20°C в течение 14 дней. ДНК из чистых культур грибов выделяли с использованием коммерческого набора DiamondDNA Plant kit (АВТ, Барнаул, Россия), согласно инструкции изготовителя. В качестве филогенетического маркера была использована последовательность региона ITS (White et al., 1990). Последовательность ITS1–5.8S–ITS2 амплифицировали с использованием праймеров ITS1 (5'-TCC-GTA-GGT-GAA-CCT-TGC-GG-3') и ITS4 (5'-TCC-TCC-GCT-TAT-TGA-TAT-GC-3'). По окончании амплификации проводили детекцию образцов электрофоретическим методом в 1.5%-м агарозном геле с GelRed. Секвенирование

полученных фрагментов ДНК проводили с использованием оборудования ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ методом Сэнгера. Последовательности были проверены и выровнены с использованием программы Mega7. Анализировали данные с помощью программы поиска Blast в GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для универсального региона ITS были выбраны критерии идентичности, предложенные Годинье с соавторами (Godinho et al., 2013). Если идентичность последовательности региона ITS составляла $\geq 98\%$, то считали, что изолят принадлежит данному виду. Если данный показатель находился между 95 и 97%, то считали, что изолят принадлежит данному роду. Полученные нуклеотидные последовательности генов были депонированы в базе данных GenBank под номерами доступа (табл. 2). Названия и положение таксонов микроскопических грибов унифицировали с использованием базы данных Index Fungorum (2021).

Характеристика комплексов микромицетов. Подсчет колоний проводили через 10–15 дней культивирования при 20°C, и через 30 дней культивирования при температуре 5°C. Данные по численности микромицетов, полученные методом посева, выражали в колониеобразующих единицах на 1 г абсолютно-сухой почвы (КОЕ/г).

Определение биомассы микроорганизмов в почве проводили методом люминесцентной микроскопии. Применяли метод Звягинцева (Zvyagintsev, 1991), но в качестве люминесцентного красителя был выбран солофенил. Его использование дает более надежные результаты по сравнению с традиционно применяемым красителем калькофлором (Hoch et al., 2005). Учет грибных пропагул осуществляли при просмотре препаратов в люминесцентном микроскопе Zeiss Axioskop (Германия) при увеличении $\times 400$. При расчете грибной биомассы (мг/г почвы) считали, что плотность спор равна 0.837 г/см³, а плотность мицелия – 0.628 г/см³ (Polyanskaya, Zvyagintsev, 2005). Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета статистических программ EstimateS9.10, MS Excel 2007 и Statistica 10.0.

Для оценки ожидаемого числа видов в области исследования использовали подход, основанный на алгоритме генерации выборки (Colwell et al., 2012; Shitikov et al., 2011). Для расчета ожидаемого числа видов в генеральной совокупности, из которой была сделана выборка, применяли скорректированный индекс Chao1 (индекс с поправкой на смещение), который рассчитывали на основе регистрации количества видов, представленных одним изолятом. Для этого расчета использовали некоммерческую программу “EstimateS 9.10” (Colwell, 2014).

Разнообразие видов (альфа-разнообразие) оценивали с помощью индекса разнообразия Шенно-

Таблица 1. Показатели численности и биомассы грибов в образцах почв черневой тайги и олиготрофных сосняков

Образец	Численность пропагул, тыс./г	Численность пропагул, млн/г	Количество спор, млн/г	Соотношение споры/мицелий (% от общего числа)	Длина мицелия, м/г	Биомасса спор, мг/г	Биомасса мицелия, мг/г	Общая биомасса, мг/г	Биомасса мицелия/био- масса спор
	Прямой подсчет								
	Метод посева								
N1 (0–10)	24.3	8.066	7.382	82/18	9.101	0.031	0.051	0.082	1.67
N1 (20–30)	8.4	5.304	3.832	72/28	12.680	0.016	0.095	0.111	5.96
N1 (30–40)	5.7	3.212	2.635	82/18	13.152	0.011	0.099	0.110	8.99
N2 (гумус)	2.1	14.962	12.997	87/13	21.097	0.054	0.159	0.213	2.92
N3 (гумус)	4.5	14.187	10.742	76/24	32.756	0.045	0.025	0.070	0.55
T1 (гумус)	17.5	15.399	14.215	92/8	6.875	0.059	0.052	0.111	0.87
T2 (гумус)	34.2	23.204	13.088	56/44	120.991	0.055	0.910	0.965	16.64
T3 (гумус)	16.4	7.925	6.643	84/16	11.799	0.028	0.089	0.117	3.20

Примечание. N1 – темно-серая почва черневой тайги (Новосибирская обл.); N2 – стратоземом темногумусовой (Новосибирская обл.); N3 – серогумусовая почва на эоловых супесях, референтная почва олиготрофных сосняков (Новосибирская обл.); T1 – темно-серая почва черневой тайги (Томская обл.); T2 – дерново-подзолистая почва черневой тайги (Томская обл.); T3 – дерново-элювиозем, референтная почва олиготрофных сосняков (Томская обл.).

Таблица 2. Количество штаммов грибов, выделенных из образцов почв черневой тайги и олиготрофных сосняков

Микромицеты, выделенные в чистую культуру	Номер штамма в генбанке	Число полученных штаммов								
		N1 (0–10)	N1 (20–0)	N1 (30–40)	N2 (гумус)	N3 (гумус)	T1 (гумус)	T2 (гумус)	T3 (гумус)	
<i>Akanthomyces lecanii</i> (Zimm.) Spatafora, Kepler et B. Shrestha		3								
<i>Aspergillus candidus</i> Link				2			1			
<i>Aspergillus</i> sp.										2
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary et Löwenthal) G. Arnaud			1							
<i>Cephalotrichum microsporium</i> (Sacc.) P.M. Kirk	OL455873	1	2							
<i>C. nanum</i> (Ehrenb.) S. Hughes						2				1
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link							1			1
<i>C. sphaerospermum</i> Penz										2
<i>C. tenellum</i> K. Schub., Zalar, Crous et U. Braun	OL455872									
<i>Clonostachys rosea</i> (Link) Schroers, Samuels, Seifert et W. Gams	OL455874	2								
<i>Coniochaeta boothii</i> (Manohar. et P. Rama Rao) Dania Garcia, Stchigel et Guarro	OL639688	3								
<i>Cordyceps farinosa</i> (Holmsk.) Kepler, B. Shrestha et Spatafora		2	1		1				2	
<i>Cosmospora berkeleyana</i> (P. Karst.) Gräfenhan, Seifert et Schroers		1				1				5
<i>C. butyri</i> (J.F.H. Beyma) Gräfenhan, Seifert et Schroers		1	4						1	
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	OL455867		5							3
<i>Humicolopsis cephalosporioides</i> Cabral et S. Marchand		1	3						3	7
<i>Geomyces vinaceus</i> Dal Vesco	OL639183, OL639635									
<i>Gymnostellatospora japonica</i> Udagawa, Uchiy. et Kamiya	OL455868, OL455869									4

Таблица 2. Окончание

Микромицеты, выделенные в чистую культуру	Номер штамма в генбанке	Число полученных штаммов							
		N1 (0–10)	N1 (20–0)	N1 (30–40)	N2 (гумус)	N3 (гумус)	T1 (гумус)	T2 (гумус)	T3 (гумус)
<i>Keithomyces carneus</i> (Duché et R. Heim) Samson, Luangsa-ard et Houbraken	OL455875				3	8			
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer									
<i>Otidodendron muniellense</i> M. Caldusch, Stchigel, Gené et Guarro	OL639187				6	1	22		2
<i>Penicillium canescens</i> Sopp		1	8						
<i>P. chrysogenum</i> Thom		20	5				5		
<i>P. decumbens</i> Thom	OL455863						2		
<i>P. dierckxii</i> Biourge							2	14	
<i>P. herquei</i> Bainier et Sartory				5			2	12	5
<i>P. lanosum</i> Westling				1				3	2
<i>P. purpurescens</i> (Sopp) Biourge		2	1		1				
<i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom		13	3	6	2	2	18	12	
<i>P. spinulosum</i> Thom				12	2		24		3
<i>Penicillium</i> sp.		4				2		1	2
<i>Phoma hiemalis</i> Died.						2			
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis et D.L. Lindner						2			
<i>P. roseus</i> Raillo	OL639144			6				2	6
<i>Rhodotorula diobovata</i> (S.Y. Newell et I.L. Hunter) Q.M. Wang, F.Y. Bai, M. Groenew. et Boekhout	OL639164								
<i>Talaromyces rugulosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert							12	2	
<i>Sarocladium strictum</i> (W. Gams) Summerb.,		4	2						
<i>Trichoderma viride</i> Pers.		9	4	1	3			5	
<i>Umbelopsis vinacea</i> (Dixon-Stew.) Arx	OL455858, OL455865, OL455876							8	4

на: $H' = -\sum P_i \times \ln P_i$, где P_i – относительная численность определенного вида (доля от общего числа изолятов этого вида). В процессе микологического анализа рассчитывали встречаемость в образцах и относительное обилие изолятов всех видов (Magurran, 2004).

Определение ферментативной активности. Наличие лигнинолитических ферментов у микромицетов определяли экспресс-методом (по интенсивности появления коричневого окрашивания среды при росте на среде МЕА с танином). Контролем служили культуры, выращенные на данной среде без добавления танина (Bilay, 1982). Наличие амилолитической активности определяли на среде, содержащей 0.5% крахмала (Bruslik et al., 2014). Способность к разложению целлюлозы оценивали визуально по наличию роста чистых культур на среде Гетчинсона (г/л): K_2HPO_4 – 1; $CaCl_2$ – 0.1; $MgSO_4$ – 0.3; $NaCl$ – 0.1; $FeCl_3$ – следы; $NaNO_3$ – 2.5; агар – 20, обеззоленный целлюлозный фильтр, т.е. по способности грибов использовать целлюлозу в качестве единственного источника органических веществ (Bilay, 1982). При визуальной оценке градации ферментной активности считали культуры высокоактивными (+++), если зона изменения окраски питательной среды превышала радиус колонии более чем на 20 мм; умеренно активными (++) , если эта зона составляла 10–20 мм, а слабоактивными (+) – менее 10 мм. Оценку проводили при диаметре колонии 30–35 мм. При оценке роста микромицетов на среде Гетчинсона считали культуры высокоактивными (+++), если рост колонии в течение 2 недель охватывал 70–100% поверхности чашки Петри, умеренно активными (++) , если рост колонии охватывал 40–70% поверхности чашки, а слабоактивными (+), если рост колонии охватывал до 40% поверхности чашки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Микологический анализ образцов почв черневой тайги и референтных олиготрофных сосняков методом посева на питательные среды показал колебание численности микромицетов от 2 до 34 тыс. КОЕ/г (табл. 1). При использовании метода прямого микроскопирования данный показатель заметно возрастал и колебался от 3.2 до 26.2 млн КОЕ/г (увеличение численности может быть связано с наличием некультивируемых форм, а также с присутствием не только живых структур микромицетов). Биомасса грибов в изученных почвах черневой тайги колеблется от 0.082 до 0.965 мг/г почвы, тогда как в референтных почвах этот показатель был значительно ниже и составлял от 0.07 до 0.117 мг/г. Это примерно соответствует биомассе грибов в почвах сибирской тайги (Nikitin et al., 2019). В образце Т2, дерново-подзолистая почва черневой тайги (Томская обл.),

грибная биомасса была наибольшей, тогда как наименьшее ее содержание отмечено в образцах серогумусовой почвы олиготрофных сосняков (Новосибирская обл.).

Максимальная длина мицелия определена в дерново-подзолистой почве черневой тайги Томской обл., где она составляла около 120 м/г почвы. При этом средний показатель длины мицелия в изученных пробах оказался значительно ниже (колебался от 6 до 46 м/г).

Доля мицелия в грибной биомассе составляла от 8 до 44%. Наибольшая доля мицелия отмечена в образце Т2, что свидетельствует об активной жизнедеятельности микроскопических грибов в почве данного типа. Таким образом, численность и биомасса микроскопических грибов в почвах черневой тайги была существенно выше, чем в референтных почвах олиготрофных сосняков, что характерно для обеих исследованных областей.

Видовой состав культивируемых грибов в почвах черневой тайги оказался довольно разнообразным. Из исследованных проб в чистую культуру было выделено более 100 изолятов мицелиальных и дрожжевых грибов, которые были отнесены к 39 видам из 24 родов (табл. 2). Число видов микромицетов в изученных образцах колебалось от 8 до 16. Представителей *Mucoromycota* и *Basidiomycota* можно рассматривать как минорный компонент общего видового комплекса культивируемых почвенных грибов. Базидиомицеты были представлены дрожжевым грибом из рода *Rhodotorula*, а мукоровые – родами *Mucor* и *Umbelopsis*.

Наибольшим видовым разнообразием характеризовались роды *Penicillium* (10 видов) и *Cladosporium* (3 вида). Остальные роды были представлены одним-двумя видами. Аскомицет *Pseudogymnoascus pannorum*, который обычно доминирует в арктических почвах (Kirtsideli et al., 2014), представлен отдельными находками, однако близкие к нему виды *P. roseus* и *Geomyces vinaceus* были выявлены как в почвах черневой тайги, так и в референтных почвах олиготрофных сосняков.

Виды родов *Aspergillus* и *Cladosporium*, которые в северных почвах могут быть характерны для антропогенных местообитаний, отмечены только единично. Следует отметить, что в почвах черневой тайги темноокрашенные (меланизированные) грибы характеризуются только единичными находками. При этом достаточно обильны светлоокрашенные стерильные формы мицелия. Использование различных питательных сред для выделения почвенных грибов не показало существенных различий по составу изолированных микромицетов.

Как видно из графика и расчета максимального среднего значения индекса $Chao1$ для кривой накопления видов (рис. 1), в изученных образцах нами выявлены практически все ожидаемые виды для данной выборки в темно-серых почвах черне-

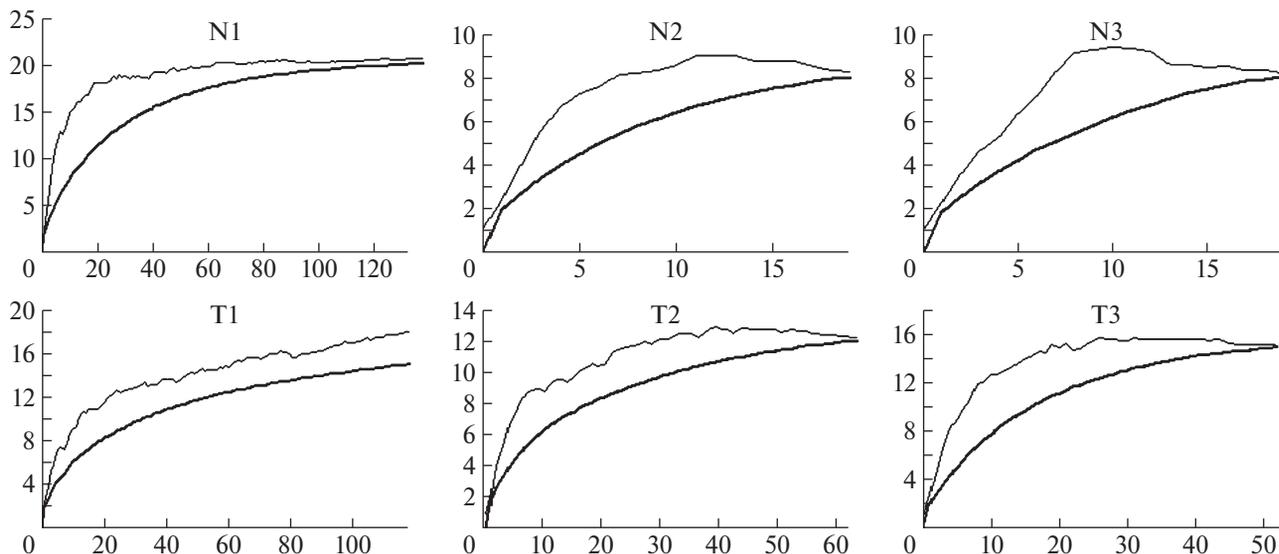


Рис. 1. Результаты бутстреп-анализа для оценки полноты выявления видов в р-нах исследования в зависимости от числа изолятов. Тонкие линии показывают средние значения индекса Chao1 (ожидаемое число видов) по мере увеличения числа изолятов, сплошные линии – сглаженные кривые разрежения (individual-based rarefaction curve) в зависимости от числа выявленных изолятов.

вой тайги Новосибирской обл. (N1) ($Chao1 = 20.5 \pm 1.29$; 20 видов; $H = 2.65$; $D = 10.7$), а также в стратоземных темногумусовых почвах (N2) и серогумусовых референтных почвах олиготрофных сосняков (N3) Новосибирской обл.

В меньшей степени оказался выявлен видовой состав грибов в темно-серой почве черневой тайги Томской обл. (T1) ($Chao1 = 15.6 \pm 0.54$; 15 видов; $H = 2.53$; $D = 11.02$), хотя для комплексов микромицетов в пробах дерново-подзолистых почв черневой тайги (T2) и дерново-элювоземных почв сосняков (T3) (Томская обл.) выявлены практически все ожидаемые виды.

Всего в почвах черневой тайги выявлено 29 видов культивируемых микромицетов, а в референтных почвах олиготрофных сосняков – 18 видов. Только в почвах черневой тайги отмечены виды *Cephalotrichum microsporum*, *C. nanum*, *Cordyceps farinosa*, *Penicillium dierckxii*, *P. purpurescens*, *Trichoderma viride*. Отметим, что виды рода *Trichoderma* способны ограничивать распространение патогенных микроорганизмов (Kandula et al., 2015). Большинство видов рода *Cephalotrichum* встречается на растительных остатках, древесине и в почве. Выявленный нами *C. microsporum*, ранее известный как *Doratomyces microsporum*, предпочитает влажные целлюлозосодержащие субстраты (Domsch et al., 2007; Flannigan et al., 2011; Woudenberg et al., 2017). Вид *Cordyceps farinosa* (*Isaria farinosa*, *Paecilomyces farinosus*) известен как энтомопатогенный гриб, способный к паразитизму на личинках *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Нymenoptera* и других насекомых (An, 2003; Yanhua et al., 2008), в том числе вызывает гибель лесных чешуекрылых и пилильщи-

ков в регионах Новосибирской области в Прибайкалье (Kryukov et al., 2011). Виды рода *Penicillium* (*P. dierckxii*, *P. purpurescens*) космополиты, распространенные от Арктики до тропиков (Domsch et al., 2007).

Результаты исследования ферментативной активности микромицетов из почв черневой тайги и олиготрофных сосняков (табл. 3) показали, что лигнинолитические ферменты продуцируют только 15% полученных штаммов. Среди них оказались представители *Aspergillus* sp., *Cosmospora butyri*, *Coniochaeta boothii*, *Gymnostellatospora japonica* из почв черневой тайги, а также *G. japonica* из референтных почв олиготрофных сосняков. Амилазная активность отмечена для 87% полученных штаммов. Способность разлагать целлюлозу зафиксирована у 81% штаммов. Степень лигнинолитической и амилазной активности может незначительно варьировать у различных штаммов одного вида, выделенных из различных типов почв, что было показано для *Penicillium spinulosum*, *Pseudogymnoascus roseus*, *Umbelopsis vinacea*.

Таким образом, изученные микромицеты способны играть заметную роль в разложении целлюлозы и полисахаридов в почвах черневой тайги. Большинство полученных штаммов характеризуется высокой и средней амилазной и целлюлозолитической активностью. При этом лишь сравнительно небольшая доля микромицетов может рассматриваться как деструкторы лигнина. Наиболее широкий спектр ферментативной активности показали штаммы *Aspergillus* sp., *Cosmospora butyri* и *Gymnostellatospora japonica*.

Таблица 3. Результаты экспресс-тестирования ферментативной активности штаммов микромицетов из почв черневой тайги

Виды микромицетов из образцов почв	№ штамма в лабораторной коллекции БИН РАН	*Ферментативная активность		
		лигнинолитическая активность	амилазная активность	целлюлозолитическая активность
<i>Aspergillus</i> sp.	4–3	+++	+	++
* <i>Cladosporium tenellum</i>	9–7 V15	–	++	+++
<i>Clonostachys rosea</i>	2–4 V18	–	–	+
<i>Coniochaeta boothii</i>	7–21 V9	+	+	–
<i>Cosmospora berkeleyana</i>	3–21	+	+++	++
<i>Epicoccum nigrum</i>	3–22	–	++	++
<i>Geomyces vinaceus</i>	3–3	–	++	+
* <i>G. vinaceus</i>	9–1 V6	–	+	+
* <i>Gymnostellatospora japonica</i>	9–5 V11	+	+	++
” ”	7–2 V17	+	+	+
<i>Keithomyces carneus</i>	4–1 V19	–	++	++
<i>Oidiodendron muniellense</i>	4–2 V5	–	+	++
<i>Penicillium decumbens</i>	7–3 V4	–	–	+
<i>P. dierckxii</i>	8–2	–	++	++
” ”	1–1	–	++	+++
<i>Penicillium herqueti</i> *	9–3	–	++	+
” ”	8–5	–	++	+
<i>Penicillium simplicissimum</i>	3–1	–	++	+++
” ”	1–3	–	++	+++
” ”	6–1	–	++	++
<i>Penicillium spinulosum</i>	7–1	–	+	–
*” ”	9–1a	–	++	+
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	9–8	–	+++	+++
<i>P. roseus</i>	3–23	–	+	++
” ”	3–3a V12	–	+++	++
*” ”	9–6 V1	–	+	+
<i>Rhodotorula diobovata</i>	7–23 V2	–	+	–
<i>Talaromyces rugulosus</i>	6–3	–	++	+
<i>Trichoderma viride</i>	2–3	–	++	+++
” ”	1–4	–	++	+++
<i>Umbelopsis vinacea</i>	9–4 V14	–	+	+
” ”	7–22 V8	–	+	–
” ”	8–4a V7	–	–	–

Примечание. *Штаммы, выделенные из почв олиготрофных сосняков (остальные штаммы выделены из почв черневой тайги). Активность штаммов: “–” – отсутствие ферментативной активности или роста на среде Гетчинсона; “+”, “++”, “+++” – визуальная градация ферментативной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований получены новые данные о микобиоте почв черневой тайги Западной Сибири. Показано изменение численности, биомассы и видового состава почвенных микроскопических грибов в зависимости от трофности почв. Показатели грибной биомассы в изученных почвах черневой тайги колеблются от 0.082 до 0.965 мг/г почвы, тогда как в референтных почвах олиготрофных сосняков эти показатели были ниже и составляли от 0.07 до 0.117 мг/г. Всего выделено и идентифицировано 39 видов микромицетов, причем в почвах черневой тайги выявлено 29 видов, а в почвах олиготрофных сосняков — 18 видов. Видовой состав микромицетов, обнаруженных в почвах черневой тайги, заметно отличается от состава комплексов микромицетов олиготрофных сосняков. Только в почвах черневой тайги отмечены виды *Cephalotrichum microsporium*, *C. nanum*, *Cordyceps farinosa*, *Penicillium dierckxii*, *P. purpurescens*, *Trichoderma viride*. Большая часть полученных штаммов характеризуется способностью к разложению целлюлозы и полисахаридов, тогда как лишь некоторые из них могут рассматриваться как деструкторы лигнина. Очевидно, что разнообразие и биохимическая активность почвенных грибов, как и других микроорганизмов (Tichonova et al., 2019), связаны с функционированием растительных сообществ черневой тайги. Почвенные микромицеты способны играть заметную роль в интенсивности биологического круговорота, оказывая влияние на продуктивность почв в уникальных экосистемах черневой тайги.

В работе использовано оборудование ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ (Санкт-Петербург) и ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург). Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-16-00049).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abakumov E.V., Loyko S.V., Istigechev G.I. et al.* Soils of cherevaya taiga of western Siberia — morphology, agrochemical features, microbiome. *Agricultural Biology*. 2020. V. 55 (5). P. 1018–1039. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1267-8>
- An J.M.* Study on the physiological activities of metabolites from *Paecilomyces farinosus*. *J. Shanxi Agric. Univ.* 2003. V. 2. P. 103–105.
- Bilay V.I.* (ed.) *Methods of experimental mycology*. Naukova Dumka, Kiev, 1982 (in Russ.).
- Bruslik N.L., Kayumov A.R., Bogachev M.I. et al.* Comparative characteristics of the amyolytic activity of gram-positive bacteria. *VSU Bulletin, Series Chemistry, Biology, Pharmacy*. 2014. N 2. P. 47–51 (in Russ.).
- Colwell R.K.* EstimateS 9.10. User's Guide. 2014. <http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>.
- Colwell R.K., Chao A., Gotelli N.J. et al.* Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *Journal of Plant Ecology*. 2012. V. 5 (1). P. 3–21. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtr044>
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H.* *Compendium of soil fungi*. IHW-Verlag, Eching, 2007.
- Flannigan B., Samson R.A., Miller J.D.* (ed.) *Microorganisms in home and indoor work environments. Diversity, health impacts, investigation and control*. CRC Press, 2011.
- Godinho V.M., Furbino L.E., Santiago I.F. et al.* Diversity and bioprospecting of fungal communities associated with endemic and cold-adapted macroalgae in Antarctica. *The ISME J*. 2013. V. 7. P. 1434–1451. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.77>
- Hoch H.C., Galvani C.D., Szarowski D.H. et al.* Two new fluorescent dyes applicable for visualization of fungal cell walls. *Mycologia*. 2005. V. 97. P. 580–588. <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.3.580>
- Index Fungorum. CABI Bioscience, 2021. <http://www.indexfungorum.org>. Accessed 20.02.2021.
- Kandula D.R.W., Jones E.E., Stewart A. et al.* *Trichoderma* species for biocontrol of soil-borne plant pathogens of pasture species. *Biocontrol Science and Technology*. 2015. V. 25 (9). P. 1052–1069. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1028892>
- Kevin D., Hyde A.E., Boonsom B. et al.* Diversity of saprobic microfungi. *Biodivers Conserv*. 2007. V. 16. P. 7–35. <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9119-5>
- Kirtsideli I. Yu., Vlasov D. Yu., Barantsevich E.P. et al.* Microfungi from soil of polar desert at Izvestia island (in Kara Sea). *Mikologiya i fitopatologiya*. 2014. V. 48 (6). P. 365–371 (in Russ.).
- Kleber M., Johnson M.G.* Advances in understanding the molecular structure of soil organic matter: Implications for interactions in the environment. *Advances in Agronomy*. 2010. V. 106. P. 77–142. [https://doi.org/10.1016/s0065-2113\(10\)06003-7](https://doi.org/10.1016/s0065-2113(10)06003-7)
- Kryukov V., Yaroslavtseva O., Lednev G.R. et al.* Local epizootics caused by teleomorphic cordycipitoid fungi (*Ascomycota, Hypocreales*) in the populations of lepidopterans and sawflies of summer-autumn complex in Siberia. *Microbiology*. 2011. V. 80 (2). P. 286–295. <https://doi.org/10.1134/S0026261711020093>
- Lapidus A.L.* Microbiota and ecological functions of soils of the unique “rainforest” region of taiga in Western Siberia. Sequencing to Function: Analysis and Applications for the Future (SFAF). 2021.
- Magurran A.E.* *Measuring biological diversity*. Blackwell Publishing, Oxford, 2004.
- Nikitin D.A., Chernov T.V., Zhelezova A.D. et al.* Seasonal dynamics of microbial biomass in soddy-podzolic soil. *Eurasian Soil Science*. 2019. V. 52 (11). P. 1414–1421.
- Olsson P., Linder S., Giesler R. et al.* Fertilization of boreal forest reduces both autotrophic and heterotrophic soil respiration. *Global Change Biology*. 2005. V. 11 (10). P. 1745–1753. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.001033.x>

- Polyanskaya L.M., Zvyagintsev D.G.* The content and composition of microbial biomass as an index of the ecological status of soil. *Eurasian Soil Science*. 2005. V. 38 (6). P. 625–633.
- Raper K.B., Thom C.* A manual of the *Penicillia*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1949.
- Rayko M., Sokornova S., Lapidus A.* Fungal metagenome of chernevaya taiga soils: taxonomic composition, differential abundance and factors related to plant gigantism. In: *Plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology. The 6th International scientific conference*. Novosibirsk, 2021, p. 183.
- Shitikov V.K., Zinchenko T.D., Rozenberg G.S.* Macroecology of river communities: concepts, methods, models. *Kassandra, Tolyatti*, 2011 (in Russ.).
- Simpson A.J., Simpson M.J., Smith E. et al.* Microbially derived inputs to soil organic matter: Are current estimates too low? *Envir. Sci. Technol.* 2007. V. 41. P. 8070–8076. <https://doi.org/10.1021/es071217x>
- Tichonova E.N., Menko E.V., Ulanova R.V. et al.* Influence of temperature on the taxonomic structure of bacterial soil communities during decomposition of forest litter. *Microbiology*. 2019. V. 88 (6). P. 744–748.
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *M. Innis et al.* (eds.). *PCR Protocols: A guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego, 1990. P. 315–322.
- Woudenberg J.H.C., Sandoval-Denis M., Houbraken J. et al.* *Cephalotrichum* and related synnematosous fungi with notes on species from the built environment. *Stud. Mycol.* 2017. V. 88. P. 137–159. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.09.001>
- Yanhua J.X., Peng Wanga J., Haijin M. et al.* The antitumor and antioxidative activities of polysaccharides isolated from *Isaria farinosa*. *Microbil. Res.* 2008. V. 163 (4). P. 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.07.002>
- Zvyagintsev D.G.* Methods of soil microbiology and biochemistry. *Izdatelstvo MGU, Moscow*, 1991 (in Russ.). *Билай В.И.* (ред.) (Bilay) *Методы экспериментальной микологии*. Киев: Наук. думка, 1982. 550 с.
- Бруслик Н.Л., Каюмов А.Р., Богачев М.И. и др.* (Bruslik et al.) Сравнительная характеристика амилолитической активности грамположительных бактерий // *Вестник ВГУ, серия Химия, Биология, Фармация*. 2014. № 2. С. 47–51.
- Звягинцев Д.Г.* (Zvyagintsev) *Методы почвенной микробиологии и биохимии*. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
- Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П. и др.* (Kirtsideli et al.) Комплексы микроскопических грибов в почвах и грунтах полярного острова Известий ЦИК (Карское море). *Микология и фитопатология*. 2014. Т. 48 (6). С. 365–371.
- Шитиков В.К., Зинченко Т.Д., Розенберг Г.С.* (Shitikov et al.) *Макроэкология речных сообществ: концепции, методы, модели*. Тольятти: Кассандра, 2011. 255 с.

Microfungi in the Soils of Chernevaya Taiga of Western Siberia

I. Yu. Kirtsideli^{a, #}, V. A. Ilyushin^{a, ##}, D. Yu. Vlasov^{a, b, ###}, E. V. Abakumov^{b, c, ####}, and A. L. Lapidus^{b, c, #####}

^a*Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^b*Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

^c*Center of Bioinformatics and Algorithmic Biotechnology of Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: microfungi@mail.ru*

^{##}*e-mail: dmitry.vlasov@mail.ru*

^{###}*e-mail: v.a.iliushin@gmail.com*

^{####}*e-mail: e.abakumov@spbu.ru*

^{#####}*e-mail: a.lapidus@spbu.ru*

Chernevaya taiga is a unique highly productive boreal ecosystem of Western Siberia. The composition of cultivated micromycetes in the soils of the chernevaya taiga (Novosibirsk and Tomsk Regions) was studied in comparison with the soils of oligotrophic pine forests. 39 species of micromycetes were identified, mainly from the *Ascomycota* division. 29 species of microscopic fungi were identified in the soils of the chernevaya taiga, while 18 species of micromycetes were recorded in the reference soils of pine forests. The species *Cephalotrichum microsporium*, *C. nanum*, *Cordyceps farinosa*, *Penicillium dierckxii*, *P. purpurescens*, and *Trichoderma viride* were recorded only in the soils of the chernevaya taiga. The change in the number, biomass and species composition of soil micromycetes depending on the trophicity of the soil is shown. The number of micromycetes ranges from 2 to 34 thousand CFU/g (using the inoculation method) and from 3.2 to 26.2 million CFU/g (using the direct microscopy method). The biomass of microscopic fungi in soil samples from the chernevaya taiga ranges from 0.082 to 0.965 mg/g soil, while in the reference soils this indicator was significantly lower and ranged from 0.07 to 0.117 mg/g. It has been shown experimentally that most of the strains isolated from the soils of the chernevaya taiga take part in the decomposition of cellulose and polysaccharides, and a relatively small proportion of species can be considered as lignin destructors.

Keywords: microbial communities, pine forests, soil fungi, taiga