

УДК 582.28:579.26

ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО СОСТАВА ГРИБОВ НА РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ СУБСТРАТАХ СТАНЦИИ «ПРОГРЕСС» (ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА)

**В. В. КАРМАНОВА¹⁾, Т. Г. ШАБАШОВА¹⁾,
Ю. Г. ГИГИНЯК²⁾, М. Г. СИНЯВСКАЯ³⁾**

¹⁾Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

²⁾Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

³⁾Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

С помощью микофлористических и молекулярно-генетических методов изучено видовое разнообразие микромицетов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс» (Восточная Антарктида). Выделены 20 видов микромицетов из 10 родов и 2 отделов (количество видов в каждой пробе варьировало от 1 до 4). Проведен таксономический анализ, определены доминирующие виды и температурозависимые особенности роста микромицетов. Установлено, что 13 из 20 выделенных видов – это анаморфы микромицетов отдела Ascomycota. Большинство обнаруженных микромицетов являются психротрофными организмами.

Ключевые слова: антарктические микромицеты; психротрофные организмы; станция «Прогресс»; оазис Холмы Ларсеманн; психрофилия; растительные субстраты.

Образец цитирования:

Карманова ВВ, Шабашова ТГ, Гигиняк ЮГ, Синявская МГ. Особенности видового состава грибов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс» (Восточная Антарктида). *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;1:41–46.
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-41-46>

For citation:

Karmanova VV, Shabashova TG, Giginyak YuG, Sinyavskaya MG. Features of the species composition of fungi on plant and animal substrates of the Progress station (East Antarctica). *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;1:41–46. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2957-5060-2023-1-41-46>

Авторы:

Вероника Вадимовна Карманова – младший научный сотрудник лаборатории микологии.

Татьяна Гарьевна Шабашова – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией микологии.

Юрий Григорьевич Гигиняк – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник сектора мониторинга и кадастра животного мира.

Марина Георгиевна Синявская – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией нехромосомной наследственности.

Authors:

Veronika V. Karmanova, junior researcher at the laboratory of mycology.

veronikarmanova@gmail.com

Tatyana G. Shabashova, PhD (biology); head of the laboratory of mycology.

tiniti@inbox.ru

Yury G. Giginyak, PhD (biology); leading researcher at the sector for monitoring and cadastre of wildlife.

antarctida_2010@mail.ru

Marina G. Sinyavskaya, PhD (biology); head of the laboratory of non-chromosomal heredity.

m.sin@inbox.ru

FEATURES OF THE SPECIES COMPOSITION OF FUNGI ON PLANT AND ANIMAL SUBSTRATES OF THE PROGRESS STATION (EAST ANTARCTICA)

V. V. KARMANOVA^a, T. G. SHABASHOVA^a, Yu. G. GIGINYAK^b, M. G. SINYAVSKAYA^c

^aV. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

^bScientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources,
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

^cInstitute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: V. V. Karmanova (veronikarmanova@gmail.com)

Mycofloristic and molecular genetic methods were used to study the species diversity of micromycetes on plant and animal substrates at the Progress station (East Antarctica). In total, 20 species of micromycetes from 10 genera and 2 phylums have been identified (the number of species in a separate sample varied from 1 to 4). A taxonomic analysis was carried out, the dominant species and temperature-dependent features of the growth of micromycetes were determined. It was revealed that 13 out of 20 identified species are anamorphs of micromycetes of the phylum Ascomycota. Most of the isolated micromycetes are psychrotolerant organisms.

Keywords: Antarctic micromycetes; psychrotrophic organisms; Progress station; oasis Larsemann Hills; psychrophilia; plant substrates.

Введение

Станция «Прогресс» – российская круглогодичная антарктическая станция, расположенная в оазисе Холмы Ларсеманн на Земле Принцессы Елизаветы в Восточной Антарктиде (рис. 1). Холмы Ларсеманн представляют собой свободную от ледникового покрова область площадью 40 км². Это самый южный прибрежный оазис и второй по величине из четырех основных свободных ото льда участков вдоль береговой линии Восточной Антарктиды, прилегающих к шельфовому леднику Эймери [1].

Относительно низкие температуры, наличие постоянных сильных северо-восточных кatabатических ветров, высокий уровень УФ-излучения, малое количество осадков (табл. 1) создают неблагоприятные условия для жизнедеятельности грибов в данном регионе. Все вышеперечисленные факторы отрицательно влияют на численность и видовое разнообразие микромицетов, способствуя отбору наиболее устойчивых популяций. Для выживания в суровых условиях Антарктиды эти устойчивые формы должны иметь крайне высокую экологическую пластичность, а также исключительные механизмы стрессоустойчивости, что позволяет рассматривать антарктические микромицеты как модель адаптации эукариотических организмов к экстремальным факторам среды.



Рис. 1. Район расположения станции «Прогресс».

Источник: [2]

Fig. 1. Location of Progress station.

Source: [2]

Таблица 1

Средние многолетние значения основных
метеорологических показателей в районе станции «Прогресс»

Table 1

Average long-term values of the main
meteorological indicators in the area of Progress station

| Метеопараметр | Значение |
|---|----------|
| Прямая радиация, ккал/см | 44,0 |
| Средняя годовая температура воздуха, °С | –9,4 |
| Среднее годовое атмосферное давление на уровне моря, мбар | 985,6 |
| Средняя годовая скорость ветра*, м/с | 6,7 |
| Средняя годовая относительная влажность воздуха, % | 53,0 |
| Общая облачность, балл | 5,7 |
| Нижняя облачность, балл | 0,8 |
| Годовое количество осадков, мм | 150,0 |
| Число дней с метелью за год | 60,0 |

*Преобладающим направлением ветра является северо-северо-восточное.

Органическое вещество также выступает одним из факторов, влияющих на биологическое разнообразие микромицетов в почвах Антарктиды. Так, наличие в почвах дополнительных примесей в виде растительных и животных (преимущественно орнитогенных) остатков способствует увеличению численности и разнообразия микромицетов [3].

Наземная растительность в оазисе Холмы Ларсеманн занимает 1 % его территории. Растительный покров достаточно однообразен и представлен мхами, лишайниками и водорослями. Доминирующим компонентом флоры в окрестностях станции «Прогресс» являются лишайники (всего около 35 видов). Наиболее часто здесь встречаются виды родов *Rhizoplaca*, *Physcia*, *Buellia*, *Umbilicaria*, *Lecidea*, *Pleop-sidium*. Бриофлора представлена родами *Bryum*, *Grimmia*, *Ceratodon*, *Sarconeurum*. Также для региона описан 1 вид печеночных мхов – *Cephaloziella exiliflora* (Taylor) Douin.

На территории оазиса гнездятся южнополярные поморники (*Catharacta maccormicki* Saunders), снежные буревестники (*Pagodroma nivea* G. Forster) и качурки Вильсона (*Oceanites oceanicus* Kuhl). В летний период сюда приплывают пингвины Адели (*Pygoscelis adeliae* Hombron & Jacquinet) и императорские пингвины (*Aptenodytes forsteri* Gray) из колоний, расположенных на близлежащих островах и в окрестных заливах. На побережье обитают тюлени Уэдделла (*Leptonychotes weddelli* Lesson), иногда встречаются тюлени-крабоеды (*Lobodon carcinophagus* Hombron & Jacquinet) и морские леопарды (*Hydrurga leptonyx* Blainville). Полностью сухопутные млекопитающие в районе станции отсутствуют. Наземная микрофауна включает представителей тихоходок, коловраток, нематод и простейших.

Почвенный покров слагают энтисоли и (или) лептосоли. Оглеенные почвы практически отсутствуют. Максимальная влажность почв отмечается на глубине 10–20 см. Для почвенного покрова характерны слабокислая или нейтральная реакция среды (рН) и легкий механический состав с преобладанием песчаных фракций. Гумусовых веществ крайне мало [4].

Материалы и методы исследования

Сбор материала для исследования осуществлялся ведущим научным сотрудником Научно-практического центра НАН Беларуси по биоресурсам Ю. Г. Гигиняком в районе станции «Прогресс» (69° 22' ю. ш., 76° 23' в. д.). Субстраты растительного происхождения представляют собой почвы с примесями мхов и лишайников, субстраты животного происхождения включают перья и кости птиц (рис. 2).

Видовая принадлежность устанавливалась с использованием микофлористических и, если возникала необходимость, молекулярно-генетических методов. При микроскопической идентификации предварительно проводился трехкратный прямой посев фрагментов субстрата на питательную среду (картофельный агар с дрожжевым экстрактом) с последующим культивированием образцов в разных температурных условиях (4; 18 и 28 °С). Использовались определители для разных групп грибов [5–8].

Выделение грибной ДНК выполнялось с помощью 5 % хелатирующей смолы Chelex (Bio-Rad, США) по стандартному протоколу [9].



Рис. 2. Изучаемые субстраты
 Fig. 2. Studied substrates

Для проведения амплификации использовалась ПЦР-смесь (конечный объем 15 мкл) следующего состава: 2,0 мкл грибной ДНК (50–100 нг); 7,5 мкл готовой смеси ArtMix (*ArtBioTex*, Беларусь); 5,0 пмоль/мкл прямого праймера ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') (*Праймтех*, Беларусь); 5,0 пмоль/мкл обратного праймера ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (*Праймтех*); 3,5 мкл воды.

Амплификация осуществлялась в термоциклере C1000 (*Bio-Rad*) по следующей схеме: 95 °С в течение 2 мин (1 цикл), 95 °С в течение 10 с и 58 °С в течение 15 с (40 циклов), 67 °С в течение 15 с (1 цикл), 12 °С до остановки.

Разделение продуктов амплификации проводилось в 2 % агарозном геле с использованием однократного TAE-буфера (окрашивание бромистым этидием). Визуализация результатов электрофореза выполнялась в системе гель-документирования Gel Doc XR (*Bio-Rad*).

Переочистка продуктов ПЦР для проведения сиквенсовой реакции осуществлялась с помощью экзонуклеазы I (Exo I) и рекомбинантной щелочной фосфатазы (rSAP) (*Thermo Fisher Scientific*, США) согласно рекомендации производителя.

Определение последовательности ДНК выполнялось по методу Сенгера. Сиквенсовая реакция проводилась с использованием набора BrilliantDye Terminator v3.1 (*NimaGen*, Нидерланды) по протоколу фирмы-производителя.

Подготовленный и высушенный фрагмент ДНК растворялся в формамиде и отдавался в Центр коллективного пользования «Геном» Института генетики и цитологии НАН Беларуси для секвенирования на генетическом анализаторе ABI 3100 (*Applied Biosystems*, США). Полученные нуклеотидные последовательности анализировались с помощью программ *FinchTV*, *Chromas*, *BLASTn*.

Результаты и их обсуждение

В ходе анализа 24 проб растительных и животных субстратов выделены 42 изолята, относящихся к 20 видам и 10 родам (табл. 2). В каждой пробе было представлено от 1 до 4 видов микромицетов.

Таблица 2

Видовое разнообразие микромицетов на растительных и животных субстратах станции «Прогресс»

Table 2

Species diversity of micromycetes on plant and animal substrates of the Progress station

| Вид | Порядок | Субстрат |
|---|--------------|-------------------------------------|
| <i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams | Hyphocreales | Почва с примесью мхов |
| <i>Acremonium vitis</i> Catt. | Hyphocreales | Почва с примесью лишайников |
| <i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. | Pleosporales | Мох |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. | Eurotiales | Скелет птицы |
| <i>Aspergillus melleus</i> Yukawa | Eurotiales | Перья и кости снежного буревестника |
| <i>Aspergillus niveus</i> Blochwitz | Eurotiales | Скелет птицы, мох |

Окончание табл. 2
Ending table 2

| Вид | Порядок | Субстрат |
|---|-----------------|--------------------------------|
| <i>Aspergillus ustus</i> (Bainier) Thom & Church | Eurotiales | Лапа пингвина Адели |
| <i>Aspergillus</i> sp. | Eurotiales | Перья и кости качурки Вильсона |
| <i>Chaetomium globosum</i> Kunze: Fr. | Sordariales | Почва с примесью мхов |
| <i>Chaetomium spinosum</i> Chivers | Sordariales | Перья птиц, мох |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> Thom* | Eurotiales | Смесь лишайников |
| <i>Penicillium expansum</i> Link | Eurotiales | Морская звезда |
| <i>Penicillium funiculosum</i> Thom | Eurotiales | Останки птиц |
| <i>Penicillium lanosum</i> Westling | Eurotiales | Остатки мха, перья птиц |
| <i>Penicillium</i> sp. | Eurotiales | Мох |
| <i>Phialophora cinerescens</i> (Wollenw.) J. F. H. Beuma* | Chaetothyriales | Древесина |
| <i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D. L. Lindner* | Thelebolales | Перья и кости птиц |
| <i>Rhizopus microsporus</i> Tiegh. | Mucorales | Почва с примесью мхов |
| <i>Thelebolus microsporus</i> (Berk. & Broome) Kimbr.* | Thelebolales | Перья и кости птиц |
| <i>Trichoderma viride</i> Pers. | Hypocreales | Почва с примесью мхов |

*Молекулярная идентификация вида.

Обнаруженные микромицеты являются представителями отдела Ascomycota (за исключением вида *R. microsporus*, относящегося к отделу Mucoromycota), 13 из 19 видов которого – аскомицеты с конидиальным спороношением. Поскольку отсутствие половой стадии в жизненном цикле обуславливает меньшие метаболические затраты, то это упрощение можно рассматривать как один из механизмов адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды. Преобладание несовершенных грибов в экосистемах Антарктиды отмечается другими авторами [10; 11].

Доминирующим порядком грибов является Eurotiales (50 %), представленный родами *Aspergillus* и *Penicillium*, далее следуют порядки Hypocreales (15 %), Sordariales (10 %), Thelebolales (10 %), Chaetothyriales (5 %), Mucorales (5 %), Pleosporales (5 %).

Наибольшим количеством видов (5) в исследуемых образцах отличаются роды *Aspergillus* и *Penicillium*. Виды рода *Aspergillus* относятся к мезофильным организмам и выделяются преимущественно из субстратов животного происхождения. Представители рода *Penicillium* растут в широком диапазоне температур (от +3 до +28 °C) и встречаются как на животных, так и на растительных субстратах. Высокая частота встречаемости характерна для видов *P. pannorum* и *T. microsporus*, которые являются психрофильными организмами с температурным диапазоном роста от +4 до +15 °C.

Большая часть обнаруженных микромицетов относятся к психротрофным организмам, имеющим низкий температурный оптимум, но способным развиваться за пределами максимальных для психрофильных видов температур (+20 °C и выше). Частая встречаемость *P. pannorum* и *T. microsporus* на различных типах субстратов в Антарктиде может указывать на их индигенность. Однако большинство обнаруженных микромицетов являются космополитными видами с высокой экологической пластичностью.

На изученных субстратах преобладают светлоокрашенные микромицеты. Мицелий и споры микромицетов приобретают темный цвет благодаря синтезу и аккумуляции меланиноподобных пигментов, которые защищают клетки грибов от УФ-повреждения. Преобладание светлоокрашенных видов, вероятно, связано с тем, что растительные и животные субстраты являются благоприятной средой для развития микромицетов, выступая в качестве барьера, защищающего от неблагоприятных воздействий внешней среды, в том числе и от УФ-излучения [10].

Отмечается присутствие аллергенных и условно-патогенных микромицетов в изученных образцах. Однако патогенность данных организмов может сильно ограничиваться их психрофильностью и психротрофностью [11].

Заключение

Таким образом, в результате исследования было выявлено, что на изученных субстратах преобладают светлоокрашенные анаморфные психротрофные микромицеты. Доминирующими по количеству

видов являются роды *Aspergillus* и *Penicillium*. Однако наибольшей частотой встречаемости характеризуются психрофильные виды *P. pannorum* и *T. microsporus*.

Чистые культуры микромицетов и пробы субстратов хранятся в гербарии Института экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси.

Библиографические ссылки

1. Марфенина ОЕ, Никитин ДА, Иванова АЕ. Структура грибной биомассы и разнообразие культивируемых микромицетов в почвах Антарктиды (станции «Прогресс» и «Русская»). *Почвоведение*. 2016;8:991–999. DOI: 10.7868/S0032180X16080074.
2. Арктический и антарктический научно-исследовательский институт [Интернет]. Санкт-Петербург: Арктический и антарктический научно-исследовательский институт; 2021. Прогресс; [процитировано 27 августа 2022 г.]. Доступно по: [https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-\(rae\)/progress](https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-(rae)/progress).
3. Arenz BE, Held BW, Jurgens JA, Blanchette RA. Fungal colonization of exotic substrates in Antarctica. *Fungal Diversity*. 2011;49:13–22. DOI: 10.1007/s13225-010-0079-4.
4. Карманова ВВ, Шабашова ТГ, Гигиняк ЮГ. Микромицеты на субстратах растительного и животного происхождения станции «Прогресс» (Антарктида). В: Жилинский МГ, Мазарчук ДВ, Дромашко СЕ, Острейко ВД, редакторы. *Подготовка научных кадров: опыт, проблемы, перспективы. Материалы II Республиканской научно-практической конференции; 11 декабря 2020 г.; Минск, Беларусь*. Минск: ИВЦ Минфина; 2021. с 55–59.
5. Билай ВИ, Курбачкая ЗА. *Определитель токсинобразующих микромицетов*. Киев: Наукова думка; 1990. 236 с.
6. Билай ВИ, Коваль ЭЗ. *Аспергиллы*. Киев: Наукова думка; 1988. 204 с.
7. Литвинов МА. *Определитель микроскопических почвенных грибов (порядок Moniliales, за исключением подсемейства Aspergillae)*. Ленинград: Наука; 1967. 304 с.
8. Domsch KH, Gams W, Anderson T-H. *Compendium of soil fungi*. 2nd edition. Eching: IHW-Verlag; 2007. 672 p.
9. Hirata T, Takamatsu S. Nucleotide sequence diversity of rDNA internal transcribed spacers extracted from conidia and cleistothecia of several powdery mildew fungi. *Mycoscience*. 1996;37(3):283–288. DOI: 10.1007/BF02461299.
10. Никитин ДА. Экологические особенности грибов Антарктиды. *Микология и фитопатология*. 2021;55(2):79–104. DOI: 10.31857/S0026364821020070.
11. Rosa LH, editor. *Fungi of Antarctica: diversity, ecology and biotechnological applications*. Cham: Springer; 2019. 345 p. DOI: 10.1007/978-3-030-18367-7.

References

1. Marfenina OE, Nikitin DA, Ivanova AE. [Structure of fungal biomass and diversity of cultivated micromycetes in soils of Antarctica (Progress and Russkaya stations)]. *Pochvovedenie*. 2016;8:991–999. Russian. DOI: 10.7868/S0032180X16080074.
2. Arkticheskii i antarkticheskii nauchno-issledovatel'skii institut [Arctic and Antarctic Research Institute] [Internet]. Saint Petersburg: Arctic and Antarctic Research Institute; 2021. [Progress]; [cited 2022 August 27]. Available from: [https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-\(rae\)/progress](https://www.aari.ru/ekspeditsii/rossiyskaya-antarkticheskaya-ekspeditsiya-(rae)/progress). Russian.
3. Arenz BE, Held BW, Jurgens JA, Blanchette RA. Fungal colonization of exotic substrates in Antarctica. *Fungal Diversity*. 2011;49:13–22. DOI: 10.1007/s13225-010-0079-4.
4. Karmanova VV, Shabashova TG, Giginyak YuG. [Micromycetes on plant and animal substrates of Progress station (Antarctica)]. In: Zhilinskii MG, Mazarchuk DV, Dromashko SE, Ostreiko VD, editors. *Podgotovka nauchnykh kadrov: opyt, problemy, perspektivy. Materialy II Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii; 11 dekabrya 2020 g.; Minsk, Belarus'* [Training of scientific personnel: experience, problems, prospects. Materials of the 2nd Republican scientific-practical conference; 2020 December 11; Minsk, Belarus]. Minsk: Information and Computing Center of the Ministry of Finance of the Republic of Belarus; 2021. p. 55–59. Russian.
5. Bilai VI, Kurbatskaya ZA. *Opredelitel' toksinobrazuyushchikh mikromitsetov* [Key to toxin-forming micromycetes]. Kyiv: Naukova dumka; 1990. 236 p. Russian.
6. Bilai VI, Koval' EZ. *Aspergilly* [Aspergillus]. Kyiv: Naukova dumka; 1988. 204 p. Russian.
7. Litvinov MA. *Opredelitel' mikroskopicheskikh pochvennykh gribov (poryadok Moniliales, za isklyucheniem podsemeistva Aspergillae)* [Key to microscopic soil fungi (order Moniliales, excluding the subfamily Aspergillae)]. Leningrad: Nauka; 1967. 304 p. Russian.
8. Domsch KH, Gams W, Anderson T-H. *Compendium of soil fungi*. 2nd edition. Eching: IHW-Verlag; 2007. 672 p.
9. Hirata T, Takamatsu S. Nucleotide sequence diversity of rDNA internal transcribed spacers extracted from conidia and cleistothecia of several powdery mildew fungi. *Mycoscience*. 1996;37(3):283–288. DOI: 10.1007/BF02461299.
10. Nikitin DA. [Ecological features of fungi in Antarctica]. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2021;55(2):79–104. Russian. DOI: 10.31857/S0026364821020070.
11. Rosa LH, editor. *Fungi of Antarctica: diversity, ecology and biotechnological applications*. Cham: Springer; 2019. 345 p. DOI: 10.1007/978-3-030-18367-7.

Получена 26.09.2022 / исправлена 05.10.2022 / принята 07.10.2022.
Received 26.09.2022 / revised 05.10.2022 / accepted 07.10.2022.