

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

*На правах рукописи*

**Антонова Ирина Игоревна**

**Почвенные микроскопические грибы национальных парков  
Центрального и Северного Вьетнама**

Специальность 1.5.18 – «Микология»

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва – 2024

Диссертация подготовлена на кафедре микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

**Научный руководитель** – *Александрова Алина Витальевна – доктор биологических наук*

**Официальные оппоненты** – *Терехова Вера Александровна – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры земельных ресурсов и оценки почв, факультет почвоведения, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»*

*Кирицдели Ирина Юрьевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории систематики и географии грибов, ФГБНУ «Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук»*

*Иванова Анна Евгеньевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры биологии почв, факультет почвоведения, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»*

Защита диссертации состоится «13» декабря 2024 года в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета МГУ.015.6 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет, аудитория М-1.

E-mail: [dissovet\\_00155@mail.ru](mailto:dissovet_00155@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3209>

Автореферат разослан «\_\_» ноября 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Д.М. Гершкович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность и степень разработанности темы.** Почвообитающие микроскопические грибы являются одним из центральных компонентов природных экосистем. Особенно велика их роль в тропических лесах, где грибы, как редуценты, обеспечивают быструю минерализацию органических остатков и вносят существенный вклад в обеспечение растений элементами минерального питания (Lodge, 1993; Hawksworth, 2002). Однако наблюдать непосредственно в природе микроскопические грибы зачастую невозможно, с чем связана их недостаточная изученность. Особенно мало комплексных микологических исследований в тропических лесах, где велика доля уникальных видов, и именно там скрывается значительная часть не выявленного разнообразия почвенных микромицетов (Bills et al., 2004; Gams, 2007).

Высокая антропогенная нагрузка и вырубка первичных тропических лесов приводит к сокращению как общего биоразнообразия, так и разнообразия почвенных микромицетов, в составе их комплексов увеличивается доля видов, сопутствующих человеку. Поэтому в последние десятилетия грибам тропиков уделяется особое внимание, активизированы исследования всех групп грибов ненарушенных природных местообитаний, являющихся местом сохранения видового богатства и способных его поддерживать. Из выделенных в ходе таких работ чистых культур микромицетов формируются коллекции (Brandt et al., 2018), с которыми можно вести дальнейшие исследования в области филогении, физиологии и выявлять биотехнологический потенциал этих видов.

Изучение микромицетов в почвах и на связанных с ними субстратах сопряжено с рядом ограничений. При использовании методов, основанных на выделении на питательные среды, мы сталкиваемся с тем, что не все грибы легко культивируются, это ограничивает выявляемое видовое разнообразие. При применении методов метабаркодинга наблюдается большее видовое разнообразие, однако идентификации до уровня вида поддается только ограниченная его часть, и нет возможности работы с чистыми культурами конкретных видов. Решить эту проблему могут только комплексные многолетние исследования на модельных территориях с использованием разных методических подходов.

Систематическое изучение видового разнообразия, особенностей распространения, освоения субстратов и экологии культивируемых микроскопических грибов из почв и растительных субстратов лесных экосистем Вьетнама было начато относительно недавно на базе Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра (Александрова и др., 2011; Калашникова, Александрова, 2014 и др.). Данная работа является составной частью этих исследований, и включает изучение культивируемых почвообитающих микромицетов на 10 особо охраняемых природных территорий (ООПТ) Центрального и Северного Вьетнама.

**Цель и задачи исследования.** Целью работы стало изучение видового разнообразия и биотехнологического потенциала культивируемых микроскопических грибов почв и растительных субстратов особо охраняемых

природных территорий Северного и Центрального Вьетнама. Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Выявить видовой состав и представленность культивируемых микроскопических грибов в наиболее типичных местообитаниях исследованных ООПТ Вьетнама;
2. Описать таксономическую структуру, количественные характеристики и показатели разнообразия комплексов микромицетов изученных местообитаний, проанализировать особенности видового состава исследованных ООПТ Вьетнама;
3. Выявить особенности комплексов микромицетов тропических лесов в зависимости от климатических параметров, типов растительности и субстрата;
4. Сравнить видовой состав культивируемых микромицетов центрального и северного Вьетнама с исследованными ранее в южном регионе;
5. Сформировать коллекционную базу штаммов микроскопических грибов Вьетнама для дальнейшего изучения их биотехнологического потенциала;
6. Провести скрининг полученных штаммов для выявления грибов-продуцентов биологически активных веществ.

**Объект исследования.** Объектом исследования являлись культивируемые почвообитающие микроскопические грибы особо охраняемых природных территорий Вьетнама.

**Научная новизна.** В ходе работы впервые получены сведения о видовом составе почвообитающих культивируемых микромицетов для 10 особо охраняемых территорий Центрального и Северного Вьетнама, составлены списки для заповедников и национальных парков. Полученный массив данных формирует основную часть базы данных о встречаемости и распределении микромицетов в почвах природных местообитаний Вьетнама и позволяет проводить анализ закономерностей их географического распространения и зависимости от субстратов, биотических и абиотических факторов. Подобные широкомасштабные работы по изучению разнообразия микромицетов в ООПТ различных частей Вьетнама проведены впервые.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Анализ полученных данных позволил определить степень влияния на разнообразие культивируемых микроскопических грибов географического положения и специфических условий местообитания. Результаты исследования могут быть использованы для сравнения с другими работами по биоразнообразию почвенных микромицетов регионов мира, выполненными с использованием культурально-морфологических методов. Сведения о составе и структуре комплексов микромицетов Центрального и Северного Вьетнама вносят существенный вклад в биогеографию грибов. Данное исследование важно для понимания закономерностей пространственного распределения микроскопических грибов, их связи с субстратами и функциональной роли в экосистемах.

По итогам работы значительно пополнена коллекция чистых культур микроскопических грибов кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ, являющаяся частью депозитария живых систем «Ноев ковчег», она активно используется для поиска грибов-продуцентов биологически активных веществ. Наиболее перспективные штаммы были депонированы во Всероссийскую

коллекцию микроорганизмов (ВКМ ИБФМ РАН), и коллекции различных НИИ: «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ГНЦ ПМБ РАН, г. Оболенск), "Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений" (ФГБУН ВИЗР), НИИ Физико-Химической биологии им. А.Н.Белозерского (кафедра химии природных соединений), где продолжается изучение их биологической активности и веществ, обладающих антибиотическими, инсектицидными и антимикотическими свойствами.

Материалы из коллекции микромицетов используются при проведении практических занятий и специальных курсов, а также на их основе защищены следующие квалификационные работы уровня бакалавриата и магистратуры: «Грибы рода *Fusarium* Link охраняемых лесов Вьетнама», «Ревизия коллекции рода *Talaromyces* молекулярно-генетическими методами», «Методы хранения тропических микроскопических грибов».

**Методология и методы исследования.** В работе использованы классические методы изучения разнообразия почвенных микромицетов: полевые сборы образцов почвы и растительных субстратов, выделение культур методом почвенного микробиологического посева из серийных разведений. Идентификация видовой принадлежности производилась по культурально-морфологическим признакам, проведен статистический флористический анализ полученных данных. Молекулярные методы исследований были применены в случае неоднозначности результатов идентификации, а также для изолятов, не дающих спороношение в культуре (стерильных форм). Биотехнологический потенциал штаммов выявляли при определении их антибиотической и ферментативной активности.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Почвенные микроскопические грибы Вьетнама отличаются высоким уровнем видового богатства и разнообразия, который определяется гетерогенностью условий местообитания.
2. Среди видов культивируемых микромицетов Вьетнама, выделенных из природных субстратов, значительную долю составляют космополитные виды, однако отмечено высокое разнообразие видов микромицетов, характерных исключительно для тропических регионов и связанных с тропическими растениями.
3. Среди штаммов микромицетов, выделенных из различных субстратов тропических лесов Вьетнама, многие демонстрируют широкий спектр биологической активности и могут быть использованы как перспективные продуценты.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность полученных результатов обеспечивается выбором стандартных методик исследования, большим объемом проанализированного материала, охватом различных субстратов и местообитаний в пределах различных ООПТ, публикацией результатов в виде научных статей в рецензируемых журналах.

Результаты исследования были представлены на заседаниях кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, а также на 5 всероссийских и международных конференциях и съездах: Международная научная конференция «Ломоносов 2014» (Москва, 2014),

Всероссийская конференция с международным участием «Микология и альгология в России. XX – XXI век: смена парадигм», посвященная 100-летию кафедры микологии и альгологии, 110-летию со дня рождения М.В. Горленко и памяти Ю.Т. Дьякова, МГУ имени М.В. Ломоносова (Москва, 2018), Проект МГУ «Ноев ковчег»: вчера, сегодня, завтра (Москва, 2018), Проблемы ботаники: история и современность (Воронеж, 2020), XVI Международное рабочее совещание по изучению макромицетов (Уссурийск, 2021).

**Личный вклад автора.** Личный вклад автора присутствует на каждом этапе выполнения диссертации и заключается в обработке природных субстратов, выделении чистых культур микромицетов, их идентификации (с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов), формировании и сопровождении коллекции штаммов, статистической обработке и обобщении результатов, написании статей и тезисов, представлении результатов работы на конференциях, тестировании антибиотической и ферментативной активности коллекционных культур. В рамках совместных работ с соавторами личный вклад отражен в пояснении к списку публикаций.

**Публикация результатов исследования.** По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, из которых 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных для защиты в МГУ, остальные 10 – тезисы конференций.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 235 страницах, содержит разнообразный иллюстративный материал – 27 таблиц, 108 рисунков (фотографии, графики, диаграммы), имеет 10 подробных приложений. Список использованных источников включает 143 работы (29 отечественных и 114 зарубежных источников).

**Благодарности.** Выражаю особую благодарность моему научному руководителю и духовному наставнику, д.б.н. Александровой Алине Витальевне, за годы совместной работы, терпение, доверие и ценные указания по выполнению данной работы. Сотрудникам Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра за организацию экспедиций, помощь в сборе образцов. Сотрудникам исследовательского центра «Диадем» за возможность проведения эксперимента по определению активности ферментов. Сотрудникам научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Володиной Л.И., Юскевич В.В., Коробовой Н.А и Быстровой Е.В. за помощь в проведении экспериментов и рекомендации для дальнейшей работы. Исследовательской группе кафедры химии природных соединений НИИ Физико-Химической биологии им. А.Н. Белозерского за возможность проведения экспериментов по определению антибиотической активности коллекционных штаммов. Сотрудникам кафедры микологии и альгологии, и отдельно, Дьякову М.Ю. за поддержание духа и позитивного настроения. Моим друзьям, Попковой Е.Г. и Калашниковой К.А. за помощь в обсуждении результатов и моральную поддержку. Антонову Е.А., за помощь в проведении молекулярно-генетического анализа, стойкость и всяческую поддержку. Маше и Мише, за позитивный настрой и понимание.

Моему отцу, Жаркову Игорю Владимировичу, за веру, безмерную помощь и стимул к дальнейшей работе.

# СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

## Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы приведены сведения об особенностях тропических лесов, экологических стратегиях и биоразнообразии почвообитающих микромицетов, рассмотрены закономерности их распространения. Обсуждены ключевые параметры, определяющие развитие комплекса микромицетов природных субстратов в тропических регионах. Обобщены данные об изученности почвообитающих микромицетов тропических регионов. Уделено внимание сравнению культурально-морфологических и молекулярно-генетических методов выявления биоразнообразия грибов. Рассмотрены прикладные аспекты изучения грибов в тропиках в целом и конкретно во Вьетнаме.

## Глава 2. Материалы и методы исследования

**Сбор образцов и места работы.** Выполнен анализ материалов, собранных в ходе комплексных экспедиций, проведённых на базе Совместного Российско-Вьетнамского Тропического центра, на территории 10 ООПТ (национальных парков, заповедников и охраняемых лесов) Центрального и Северного Вьетнама в 2013 – 2019 гг. (рис. 1). Образцы субстратов (почва, опад, субстрат из корзинок эпифитов, по 10 для каждого участка, всего 710 образцов), отбирали на выбранных территориях в наиболее типичных местообитаниях (проанализирован 31 участок леса, табл. 1). В работе приведена подробная характеристика каждого исследуемого местообитания по единому плану.



**Выделение микромицетов.** Анализ образцов проводили сразу после их доставки в МГУ стандартным микробиологическим методом посева из серийных разведений (Методы..., 1991). Было использовано две питательных среды: модифицированная среда Чапека-Докса с содержанием сахарозы 0,3 % и сусло-агар (с добавлением гентамицина). Высев проводили в пятикратной повторности на каждый тип среды для каждого образца (10 чашек Петри на один образец, всего 7100 чашек для почвенного посева). Учет выросших колоний микромицетов и выделение в чистые культуры проводили на 7 сутки роста, дополнительно чашки просматривали на 14 день для выявления медленно растущих видов.

**Хранение культур.** Чистые культуры микромицетов помещены на хранение в морозильной камере (-80°C). Мицелий и споровую массу переносили в микропробирки (2 мл) в раствор криопротектора (водный раствор глицерина 20% с добавлением агара и TWEEN 20).

**Морфологическая идентификация.** Для идентификации использовали общепринятые определители, ревизии отдельных родов и описания новых видов. Наименования и систематическое положение дано в соответствии с базами данных: SABI Bioscience Databases Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) и The Myco Bank Fungal databases (<http://www.mycobank.org>) по состоянию на март 2024 года.

**Молекулярная идентификация.** В случае, когда идентификация на основе микроморфологии неоднозначна, были применены молекулярные методы. Для изолятов, не дающих спороншение в культуре (стерильных форм), использовали участок ITS, считающийся универсальным генетическим ДНК-штрихкодом для грибов. Для рода *Talaromyces* был выбран участок гена бета-тубулина (BenA): он, по литературным данным, показал более высокую разрешающую способность, чем ITS.

Геномную ДНК экстрагировали из мицелия используя лизирующий буфер, ПЦР проводили с использованием готовой смеси ScreenMix (ООО «Евроген», Россия) в термоциклере T100 (Bio-Rad). Продукты амплификации вырезали из геля и очищали на спин-колонках с кремниевой мембраной с помощью набора Cleanup Standard (ООО «Евроген», Россия). Секвенирование проводила компания «Евроген» (Москва, Россия) по протоколу BigDye (ABI Prism) на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730xl (Applied Biosystems, Калифорния, США) как с прямым, так и с обратным праймерами. Полученные последовательности ДНК были попарно выравнены и объединены в программе MEGA11. Поиск сходных нуклеотидных последовательностей проведен по базе данных NCBI (GenBank) при помощи BLAST. Вновь полученные последовательности ДНК, как ITS, так и BenA были депонированы в GenBank.

**Обработка данных.** Представленность видов оценивали по показателям пространственной частоты встречаемости и относительного обилия видов. Для оценки видового разнообразия использованы индекс разнообразия Шеннона, мера доминирования Симпсона. Для оценки  $\beta$ -разнообразия проведен расчет коэффициентов сходства Сьёренсена. Использован метод ординации для оценки общего сходства участков. Для определения степени изученности видового богатства микромицетов построены кумулятивные кривые в программе EstimateS. Анализ климатических показателей проведен по данным модели Worldclim 2.0,

использованы 19 климатических параметров, взятых с разрешением в 30 сек. (ок. 1 км). Показатели извлечены с помощью программы DIVA-GIS.

**Математические расчеты** производили в программах Microsoft Excel Office, Statistica 8; PCO3 (Anderson, 2003), EstimateS (Colwell, 2009), Orange3 (<http://orange.biolab.si/>), диаграммы ВЕННА построены с использованием ресурса <http://www.interactivenn.net> (Heberle et al., 2015). Для статистического анализа полученных данных применяли также язык программирования R в интерфейсе RStudio (Вер. 2023.12.1.).

**Исследование антибиотической активности коллекционных штаммов микромицетов в отношении госпитальных инфекций.** Работа выполнена в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» совместно с его сотрудниками. Для определения антимикробного спектра действия 597 коллекционных штаммов использовали метод блоков, основанный на способности веществ диффундировать в толщу агара и задерживать рост 8 тест-объектов, включающих возбудителей особо опасных инфекций и госпитальные штаммы с повышенной резистентностью (использовали питательную среду ММС, инкубация в течение 5–13 дней при температуре 28°C). Каждый опыт проводили в трехкратной повторности. Активность штаммов определяли по среднему значению диаметра зоны подавления роста тестовых культур.

**Исследование антибиотической активности в отношении модифицированных штаммов *Escherichia coli*.** Работа была выполнена на базе НИИ Физико-Химической биологии им. А.Н. Белозерского совместно с его сотрудниками. Среди хранящихся в коллекции микромицетов было отобрано 120 коллекционных штаммов грибов, выделенных из природных субстратов ООПТ Вьетнама. Для определения их антимикробного действия применяли метод агаровых блоков и метод лунок. Тест-объектами служили: *E.coli*  $\Delta tol$  Cp Dualrep2 (Amp<sup>R</sup>) и *E.coli* BW lpt Dp Dualrep2 (Kan<sup>R</sup>), использовали агаризированную среду LB в двух вариантах: с добавлением ампициллина и канамицина, контроль: левофлоксацин и эритромицин. Инкубировали при 37°C в течение суток, после чего проводили анализ с помощью системы визуализации ChemiDoc (Bio-Rad) в двух флуоресцентных каналах – Cy3 (для детекции индукторов SOS-ответа, Lev) и Cy5 (для детекции ингибиторов биосинтеза белка, Ery).

**Скрининг почвенных микромицетов продуцентов фермента бета-маннаназы.** Работа была выполнена на базе Некоммерческого партнерства "Исследовательский центр Диадем" совместно с его сотрудниками. Для скрининга были отобраны 100 штаммов, выделенных из субстратов национальных парков Суаншон, Бави и Йокдон. Культуры выращивали на 3-х вариантах среды Чапека с различным количеством сахарозы и дрожжевого экстракта, во все варианты сред был добавлен 1% камеди рожкового дерева. Инкубировали колбы с культурами 4–6 дней при температуре 30°C. Полученную культуральную жидкость анализировали на наличие фермента бета-маннаназы при двух значениях pH среды (pH 4.0 и pH 6.0). Активность фермента измеряли с помощью специфического галактоманнана (Megazyme, S-ACGLM), используемого в качестве субстрата, с которым реагирует фермент в соответствии с инструкцией изготовителя субстрата.

### Глава 3. Результаты и обсуждение

**Видовой состав и структура комплексов культивируемых микроскопических грибов в наиболее типичных местообитаниях ООПТ Центрального и Северного Вьетнама.** Приведены описания микобиоты 10 территорий: национальных парков, природных заповедников и охраняемых лесов (табл. 1) на основе анализа 31 участка коренных и слабо нарушенных тропических лесов, которые сделаны по единому плану и включают список видов микромицетов, анализ таксономических групп, характеристики и показатели разнообразия. Представлены графики рангового распределения видовых обилий в комплексах из различных субстратов, перечислены виды-доминанты, отмечены интересные с точки зрения экологии и биотехнологии виды, охарактеризованы эколого-трофические группировки для конкретных местообитаний. Выполнен расчёт показателей, оценивающих полное видовое богатство и степень изученности микобиоты. Проведено сравнение участков в пределах одной ООПТ, применена ординация комплексов видов с учетом представленности видов, отражающая их своеобразие, в качестве наглядной визуализации степени сходства комплексов видов, использованы диаграммы Венна.

При анализе характеристик разнообразия комплекса микромицетов показано, что изученные местообитания отличаются по численности почвенных грибов, количество КОЕ микромицетов, как правило, выше в листовом опаде, чем в почве. Количество обнаруженных видов, наоборот, стабильно больше выявляется из образцов почвы. При анализе такого специфического субстрата, как «воздушная почва» из корзинок эпифитных папоротников, можно заметить, что значения большинства показателей принимают промежуточное значение между образцами почвы и листового опада.

Обнаруженные микромицеты относятся к разным эколого-трофическим группам: наиболее многочисленны сапротрофы, развивающиеся в почве и на разлагающихся растительных остатках. Это, в первую очередь, представители анаморфных родов *Aspergillus* и *Penicillium* и связанные с ними телеоморфные рода. К этой же группе относятся *Acremonium*, *Chaetomium*, *Humicola*, *Purpureocillium*, *Trichoderma* и др. Представлены и фитопатогенные грибы, способные не только к сапротрофному развитию на растительных остатках, но и к активному поражению древесных и травянистых растений (*Fusarium* spp., *Bionectria rossmaniae* Schroers, *Cladosporium oxysporum* Berk. et M.A. Curtis, *Cladosporium sphaerospermum* Penz., *Pestalotiopsis* sp., *Trichoderma* spp.). Можно отметить присутствие разнообразных энтомопатогенных видов в большинстве точек (*Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., *Keithomyces carneus* (Duché & R. Heim) Samson, Luangsa-ard et Houbraken, *Marquandomyces marquandii* (Masse) Samson, Houbraken et Luangsa-ard, *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones et Samson, *Tolyposcladium album* (W. Gams) C.A. Quandt, Kepler et Spatafora и другие). Интерес представляет также *Albifimbria verrucaria* (Alb. & Schwein.) L. Lombard et Crous и *Aspergillus aculeatus* Iizuka: эти виды являются активными деструкторами растительных тканей и потенциальными продуцентами биологически активных веществ.

Таблица 1.

Исследованные местообитания ООПТ Центрального и Северного Вьетнама и количество выявленных в них видов культивируемых почвообитающих микромицетов

Год	ООПТ	Исследованные местообитания	Обозначение	Кол-во образцов	Виды / роды	Штаммы в коллекции
2013	Бузямап	Низкогорный лес с <i>Lagerstroemia calyculata</i> Kurz.	БЗМ Л	20	47/24	124
		Прирусловой лес с <i>Arenga westerhouti</i> Griff. i	БЗМ Па	20	44/27	
		Низкогорный лес на гряде с преобладанием <i>Dipterocarpus costatus</i> C.F. Gaertn.	БЗМ Д	20	36/19	
2014	Суаншон	Низкогорный полидоминантный карстовый лес	СШ К1	20	51/23	155
		Карстовые пещеры	П1 и П2	20	35/19	
	Йокдон	Светлый диптерокарповый лес с <i>Dipterocarpus turbinatus</i> C.F. Gaertn.	ЙД	20	40/20	
	Бави	Среднегорный полидоминантный широколиственный лес на хребте	БВ	20	59/31	
2015	Конплонг	Низкогорный среднесложный лес, преобладает <i>Calophyllum</i> sp.	КП 1000	30	55/26	12
2016	Конкакинъ	Низкогорный полидоминантный постоянно влажный лес	ККК 1000	30	43/20	145
		Среднегорный полидоминантный высокоствольный лес на хребте	ККК 1500	30	39/19	
	Контюранг	Среднегорный широколиственный высокоствольный лес на склоне	КТР Ли	20	33/14	
		Среднегорный лес с преобладанием <i>Dacrydium elatum</i> (Roxb.) Wall. ex Hook. (Podocarpaceae)	КТР Дк	20	37/16	
	Конплонг	Среднегорный полидоминантный постоянно влажный лес на склоне	КП 1500	20	22/12	
	Суаншон	Среднегорный широколиственный лес с преобладанием Fabaceae, Lauraceae, Magnoliaceae	СШ К2	30	35/19	
		Низкогорный полидоминантный карстовый лес в долине временного водотока	СШ Г	20	27/14	
		Банановая роща ( <i>Musa acuminata</i> Colla)	СШ Б	20	24/14	
	Карстовые пещеры	СШ П	10	20/14		
2017	Конкакинъ	Низкогорный полидоминантный низкоствольный широколиственный лес на склоне	ККК 1700	30	62/28	309
		Низкогорный высокоствольный полидоминантный лес на широком гребне хребта	ККК 1900	20	63/35	
		Долинный заливаемый полидоминантный лес с преобладанием Dipterocarpaceae	ККК 2Д	20	52/27	
		Среднегорный с доминированием <i>Pinus dalatensis</i> de Ferre на широком гребне хребта	ККК 2С	30	35/20	
2018	Пумат	Полидоминантный постоянно влажный лес с присутствием <i>Dracontomelon dao</i> (Blanco) Merr. et Rolfe	ПМ Дол	30	57/21	217
		Низкогорный широколиственный с участием голосеменных полидоминантный лес	ПМ Хр	20	55/19	
	Пухоат	Долинный высокоствольный лес с преобладанием <i>Terminalia</i> sp. и <i>Aglaia gigantea</i> (Pierre) Pellegr.	ПХ Т	30	68/30	
		Горный высокоствольный лес с преобладанием <i>Cunninghamia lanceolata</i> (Lamb.) Hook.	ПХ Хр	20	62/29	
	Контюранг	Низкогорный высокоствольный лес с присутствием <i>Dipterocarpus kerrii</i> King	КТР Д	30	33/14	
		Низкогорный смешанный лес с преобладанием <i>Dacrydium elatum</i> (Roxb.) Wall. ex Hook.	КТР Дк2	20	37/16	
2019	Сонгтхань	Горный первичный полидоминантный высокоствольный лес на широком хребте	СТ Хр	30	83/44	120
		Горный первичный полидоминантный высокоствольный лес в долине ручья	СТ Дол	30	86/50	
		Низкогорный высокоствольный лес с преобладанием <i>Dipterocarpus hasseltii</i> Blume	СТ Д	30	60/12	
Всего	10 ООПТ	31 участок леса		710	371/135	1082

## Пример описания результатов исследования для каждой ООПТ. Почвенные микроскопические грибы Национального парка Бузьямап.

Изучен видовой состав культивируемых микроскопических грибов в почве и опаде диптерокарпового, лагерстремиевого и пальмового участков лесов национального парка Бузьямап, где обнаружено 88 видов микроскопических грибов, относящихся к 42 родам, из них 13 видов отмечено для Вьетнама впервые.

Видовой состав отличается высоким разнообразием и характерными для тропических лесов особенностями таксономической структуры. Отдел Mucoromycota представлен 2 видами, один – *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, относится к отделу Basidiomycota, остальные 85 видов принадлежат к отделу Ascomycota, ведущими порядками являются *Eurotiales* (42 вида) и *Hypocreales* (17 видов). Выявлено сравнительно большое количество потенциально фитопатогенных грибов и стерильных форм. В группу доминантов на всех изученных субстратах входят три вида: *Aspergillus tubingensis* Mosseray, *Penicillium ochrochloron* Biourge, *Trichoderma harzianum* Rifai. В национальном парке Бузьямап выявлены такие редкие виды как *Chaetomella circinoseta* Stolk и *C. raphigera* Swift, выделяемые, преимущественно, из тропических почв и растений. В почве на участке леса под лагерстремиями выделен редкий микромицет из рода *Heterocephalum taiense* Persiani et Maggi, обладающий уникальной морфологией конидиогенного аппарата. Отмечен редкий гриб, связанный с пальмами – *Endocalyx melanoxanthus* (Berk. et Broome) Petch. Микромицет *Thielaviopsis radicicola* (Bliss) Z.W. De Beer et W.C. Allen, являющийся довольно серьезным патогеном финиковой пальмы, обнаружен в почве на участке леса с преобладанием *Lagerstroemia* sp.

Показатели численности и разнообразия почвенных микромицетов по участкам леса представлены в таблице 2. Численность КОЕ была закономерно выше в опаде, чем в почве, а самое высокое видовое богатство было выявлено для комплекса микромицетов из образцов почвы с участка пальмового леса, и индексы видового разнообразия там принимали наибольшее значение. Видовое разнообразие комплексов культивируемых микромицетов, оцененное с помощью индексов Симпсона и Шеннона, было довольно высоким: в почве всех местообитаний оно выше, чем в опаде, разнообразие сокращается по градиенту от долины реки до гребня хребта.

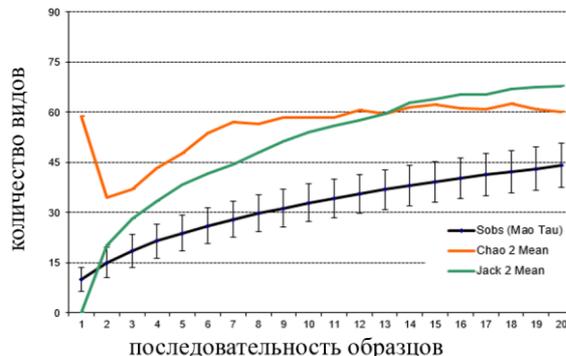
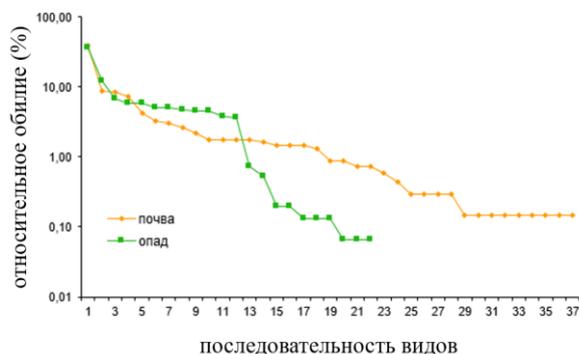
**Таблица 2.** Количественные характеристики и показатели разнообразия комплексов почвенных микромицетов из почвы и опада трех участков лесов национального парка Бузьямап

Характеристика	БЗМ-Д		БЗМ-Л		БЗМ-Па	
	A (s)	A <sub>0</sub> (l)	A (s)	A <sub>0</sub> (l)	A (s)	A <sub>0</sub> (l)
N	10	10	10	10	10	10
NK	682	1523	356	1589	608	1335
КОЕ	166 ± 6	350 ± 7	105 ± 6	502 ± 23	104 ± 2.4	299 ± 6.4
S	37	22	35	26	40	30
NS	10 (6-19)	10 (5-14)	12 (5-16)	12 (10-17)	16 (11-19)	13 (7-17)
1/D	5.62	5.96	6.29	8.96	18.54	8.4
H	2.47	2.24	2.79	2.24	3.2	2.6
E <sub>H</sub>	0.68	0.72	0.78	0.69	0.87	0.76

БЗМ-Д – диптерокарповый участок; БЗМ-Л – лагерстремиевый участок; БЗМ-Па – пальмовый участок; A (s) – верхний горизонт почвы; A<sub>0</sub> (l) – опад;

Условные обозначения строк в таблице 2: N – число обработанных образцов; NK – количество выделенных колоний; КОЕ – количество КОЕ микромицетов (тыс./г воздушно сухого субстрата ± 95%-доверительный интервал); S – количество обнаруженных видов; NS – Среднее количество видов в образце (пределы варьирования); 1/D – индекс разнообразия Симпсона; H – индекс разнообразия Шеннона; E<sub>H</sub> – выровненность видовых обилий.

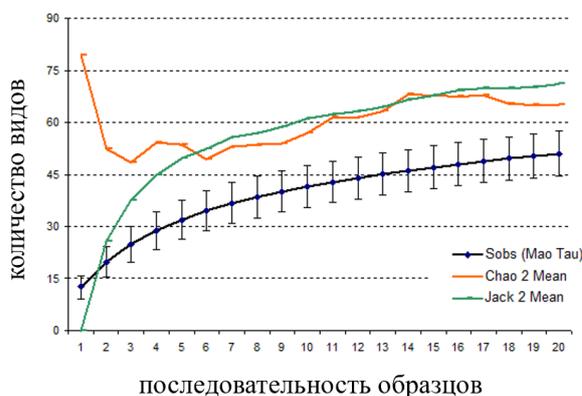
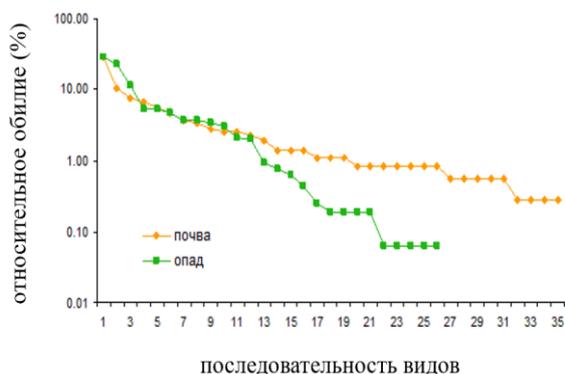
### БЗМ-Д



А

Б

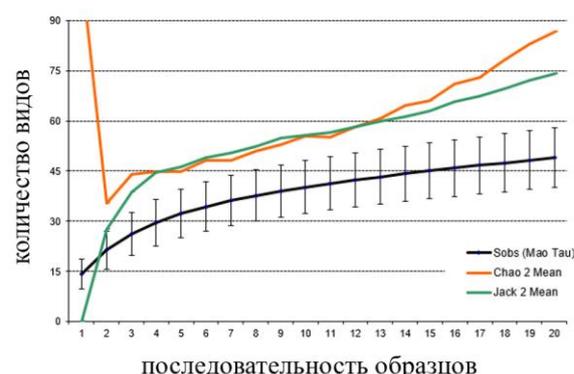
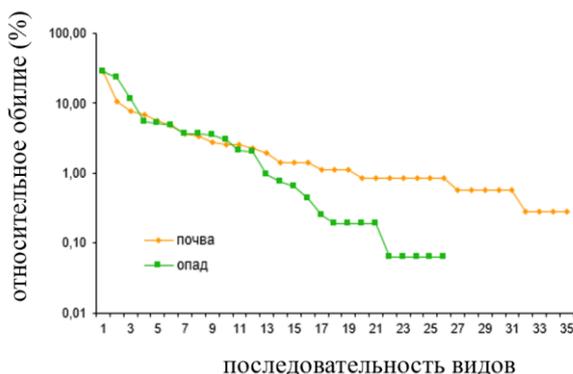
### БЗМ-Л



В

Г

### БЗМ-Па



Д

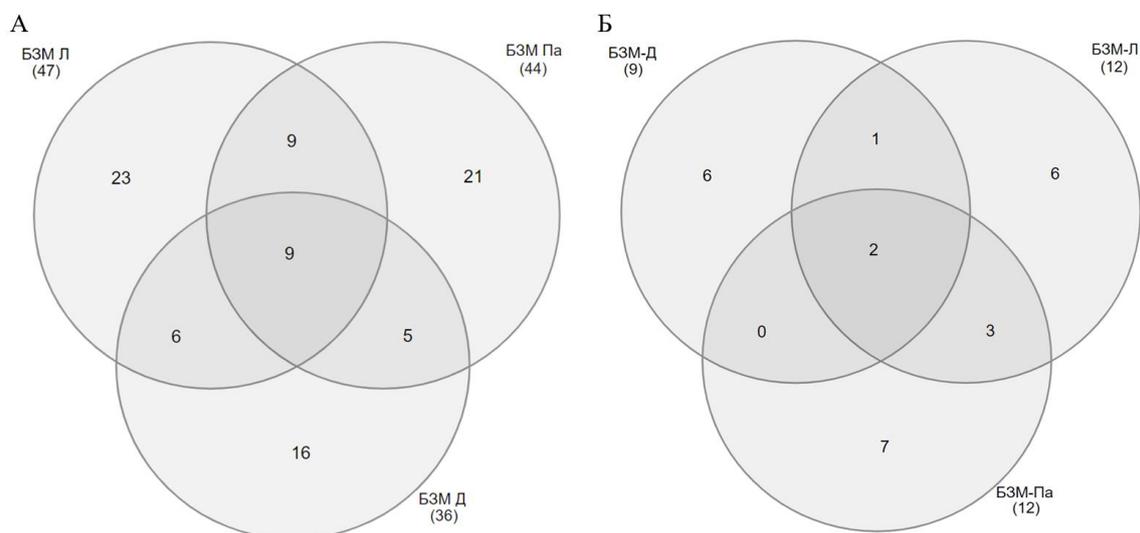
Е

**Рисунок 2.** Ранговое распределение видовых обилий (А, В, Д) и экстраполяция видового богатства комплексов почвообитающих микромицетов (Б, Г, Е) участков диптерокарпового (А, Б), лагестремиевого (В, Г) и пальмового (Д, Е) лесов в национальном парке Бузьямап.

Вертикальными линиями обозначен 95%-доверительный интервал. S(est) – число выявленных видов; Chao2 – оценки видового богатства алгоритмом Чао второго уровня; Jack2 – оценки видового богатства алгоритмом «складного ножа» второго уровня.

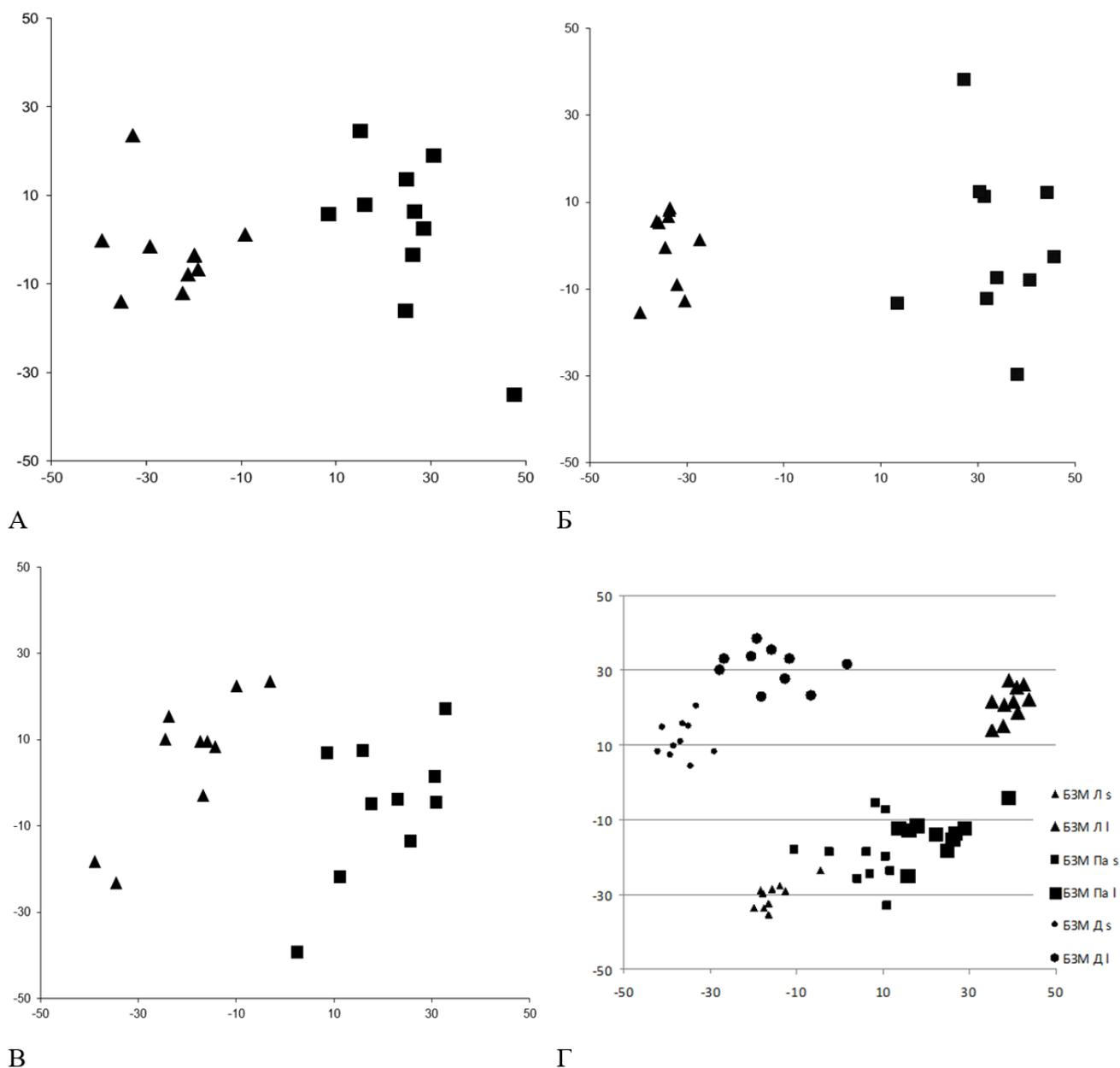
На графиках рангового распределения видовых обилий (рис. 2) видно, что на трех участках больше видов выявлено в почве, выше там и выровненность видовых обилий. Графики видов в почве соответствуют модели «разломанного стержня»: что соответствует высокой выровненности видовых обилий, а распределение видов в опаде ближе к логнормальному, что зачастую наблюдается в зрелых и стабильных сообществах (Леонтьев, 2008). Расчет показателей, оценивающих полное видовое богатство (степень изученности видового состава, выявляемого посевом из почвенных разведений) микромицетов показал, что для всех участков лесов степень изученности при однократном исследовании невелика – от 56 до 78% по Chao2, и от 64 до 71% по Jack2, что говорит о значительной гетерогенности видового состава микромицетов изучаемых территорий.

Сравнение списков видов культивируемых микроскопических грибов исследованных местообитаний в национальном парке Бузымап показало довольно высокое своеобразие видового состава микромицетов. На диаграмме Венна видно (рис. 3А), что общих видов между участками только 9.



**Рисунок 3.** Диаграмма Венна, отображающая сходство в комплексах видов культивируемых микроскопических грибов исследованных участков лесов в национальном парке Бузымап. А – сравнение общих видовых списков, Б – сравнение видов-доминантов.

Комплексы микромицетов изученных участков леса расходятся на группы как по типам изученных местообитаний, так и по типам субстратов. Наиболее сходными оказались образцы почвы и опада в пределах одного биотопа. Ординация, построенная для всех участков лесов национального парка Бузымап (рис. 4Г), показала своеобразие комплексов микромицетов диптерокарпового леса. Другие участки ближе друг к другу, но всё же образуют обособленные группы. Сильнее всего отличаются комплексы микромицетов, выявленные в почве и на листовом опаде лагерстремиевого леса (БЗМ-Л). Отличия между комплексами видов почвы и опада пальмового участка леса (БЗМ-Па) на гидроморфных почвах в долине ручья выражены меньше. Это может свидетельствовать о том, что в более влажных условиях почвообитающие виды раньше начинают заселять опад после сухого сезона.



**Рисунок 4.** Ординация комплексов почвообитающих микроскопических грибов, выделенных в национальном парке Бузымап с учетом представленности видов. Метод главных компонент с использованием меры отличия Брея-Кёртиса в программе PCO3 (Anderson, 2003). Оси отражают абстрактную величину степени сходства комплексов видов микромицетов в проанализированных образцах. ▲ – образцы опада, ■ – образцы почвы, А – участок леса БЗМ-Д, Б – участок леса БЗМ-Л, В – БЗМ-Па, Г – сравнение трех участков лесов, s – верхний горизонт почвы; l – опад.

Полученные данные свидетельствуют об уникальности микобиоты лесов национального парка Бузымап, тем не менее, состав видов в этих биотопах имеет ряд общих черт: он отличается высоким видовым разнообразием, присутствием редких видов, особенностями таксономической структуры: крайне низкой представленностью отдела *Micoromycota*, значительной долей видов рода *Aspergillus*, имеющих тропическое распространение и сравнительно большим количеством потенциально фитопатогенных грибов, обилием стерильных форм.

### Таксономический анализ и показатели видового разнообразия.

В результате обработки 710 образцов почвы, листового опада и субстрата из корзинок эпифитных растений («воздушная почва»), в 10 ООПТ Центрального и Северного Вьетнама был выявлен 371 вид культивируемых микроскопических грибов, относящихся к 135 родам. Список микобиоты Вьетнама пополнен на 194 вида. Из всего количества видов к отделу Mucoromycota (подотделы Mortierellomycotina и Mucoromycotina) относятся только 24 (около 6% всего видового богатства). Отдел Basidiomycota включает 5 видов (культивируемых на питательных средах), а остальные принадлежат отделу Ascomycota, большая часть из которых анаморфные виды (рис. 5). Ведущими порядками являются Eurotiales (133 вида) и Нурocreales (104 вида). Возрастание «удельного веса» гипокрейнных грибов, показанное для Вьетнама, отмечено и для других тропических областей (Rossmann et al., 1999; Chaverri, Vilchez, 2006; и др.). Перестановки в группе ведущих родов (*Penicillium* и *Aspergillus*) и возрастание относительной доли второго из них, по направлению с севера на юг, также отмечалось в большей части работ, посвященных географии почвообитающих микромицетов (Christensen, 1981; Мирчинк, 1981; Klich, 2002).

Сравнивая состав видов всех исследованных ООПТ Вьетнама, можно обратить внимание на уникальность каждого конкретного участка леса: среди 371 вида микромицетов, только 3 были найдены во всех местообитаниях, это *Aspergillus aculeatus* Iizuka и *Trichoderma harzianum*, а также не идентифицированный до вида *Pestalotiopsis* sp.

Анализируя видовой состав грибов, выявленных в ходе исследования, можно выделить группу космополитных видов, одинаково часто встречающихся как в тропических, так и умеренных регионах, а также группу преимущественно тропических видов, среди которых есть редкие и уникальные. Так, можно отметить *Endocalyx melanoxanthus*, *Chaetomella circinoseta*, *C. raphigera*, *Pilidium* sp. и др. Для вида *Spegazzinia flabellata* S.M. Leão & Gusmão, описанного ранее из Бразилии с опавших плодов, это вторая находка в мире.

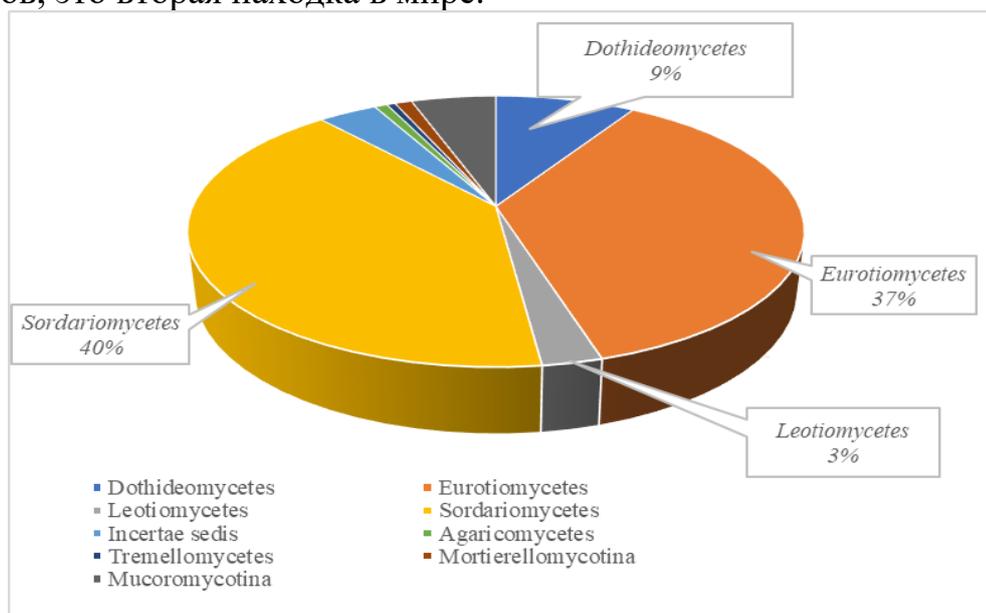


Рисунок 5. Диаграмма представленности классов микроскопических грибов, выявленных в 10 ООПТ Вьетнама.

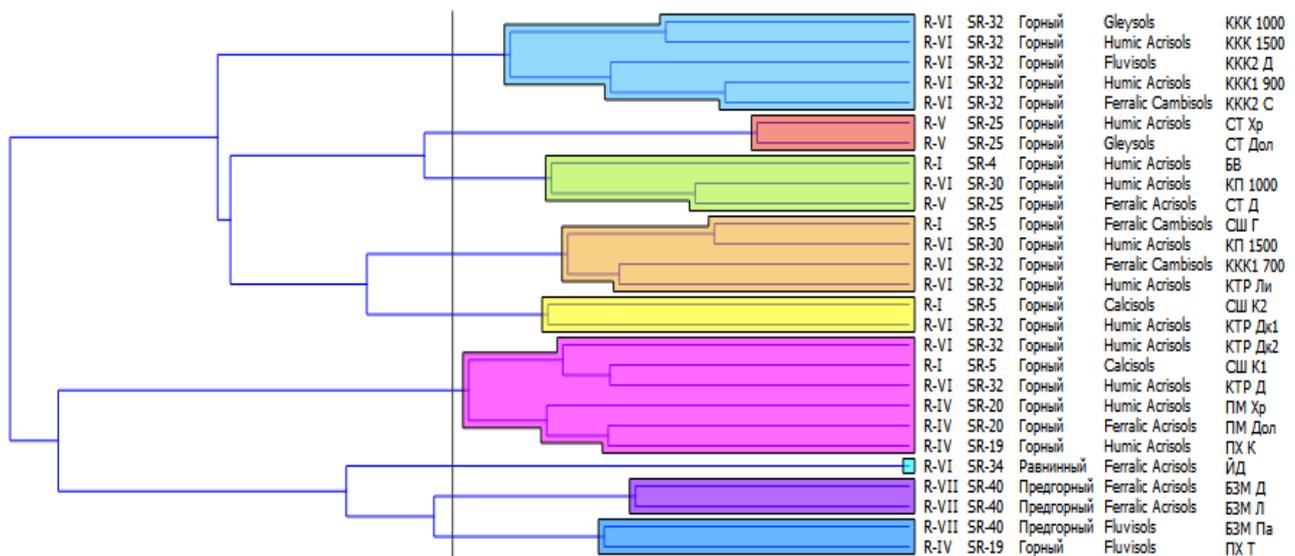
**Анализ сходства видового состава исследованных ООПТ Вьетнама.** Для сравнения степени сходства видового состава культивируемых микромицетов в исследованных ООПТ Вьетнама был использован индекс подобия Сьёренсена для каждой пары из 10 территорий, исследованных в данной работе (табл. 3). Значение индексов сходства не превышают 0,54 (для ООПТ Пумат и Пухоат), это говорит о том, что для каждой территории велика доля уникальных видов, выявленных только в конкретном местообитании. Наибольшим своеобразием отличается национальный парк Йокдон, индексы сходства его с другими ООПТ не превышают 0,24, а среднее их значение составляет всего 0,2.

**Таблица 3.**

Индексы сходства между ООПТ Центрального и Северного Вьетнама (коэффициент Сьёренсена, качественный), обозначения ООПТ как в таблице 1

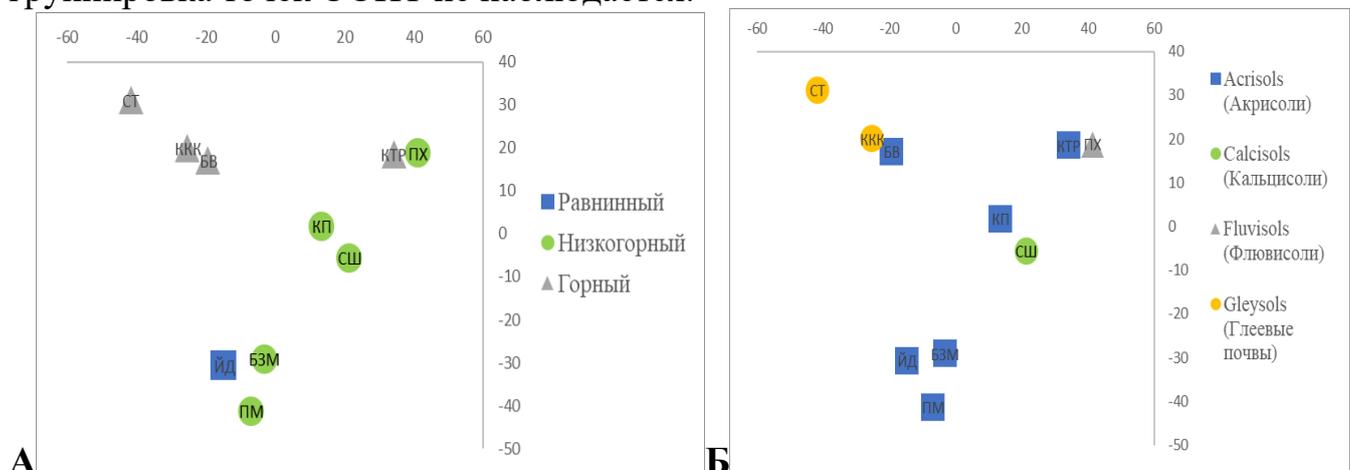
	БЗМ	ЙД	КП	ККК	КТР	СШ	БВ	ПМ	ПХ
БЗМ	###								
ЙД	0,24	###							
КП	0,38	0,23	###						
ККК	0,38	0,24	<b>0,42</b>	###					
КТР	0,36	0,18	0,39	0,40	###				
СШ	<b>0,40</b>	0,17	<b>0,41</b>	0,42	<b>0,50</b>	###			
БВ	0,33	0,20	<b>0,44</b>	0,32	0,34	0,36	###		
ПМ	0,35	0,15	0,35	<b>0,40</b>	<b>0,46</b>	<b>0,46</b>	0,35	###	
ПХ	0,38	0,20	0,38	0,38	<b>0,49</b>	<b>0,47</b>	0,37	<b>0,54</b>	###
СТ	0,34	0,13	0,36	<b>0,44</b>	<b>0,45</b>	0,40	0,30	0,37	0,37

Для визуализации результатов проведен кластерный анализ комплексов видов культивируемых микромицетов выявленных во всех местообитаниях исследованных территорий, результаты представлены на рисунке 6. На построенной дендрограмме изученные местообитания расходятся на два больших кластера, более-менее связанные с географическим положением, которые в свою очередь делятся на компактные группы. Видно формирование «разбросанных» кластеров, в этой ситуации удаленные местообитания оказываются связанными цепочками «промежуточных». При рассмотрении широтно-зонального распределения микромицетов наблюдается некоторая географическая тенденция: обособление равнинного и предгорных участков лесов центральной части Вьетнама от участков горных лесов северной территории, что, скорее всего, связано с комплексом климатических факторов и особенностями рельефа выбранных территорий. Интересно отметить, что объединяются местообитания из удаленных ООПТ, расположенные на переувлажненных почвах (БЗМ Па и ПХ Т). Можно предположить, что гидрологический режим для микроскопических грибов важнее географического положения.



**Рисунок 6.** Дендрограмма кластерного анализа видового состава выявленных микромицетов для всех исследованных местообитаний. Метод Варда, программа Orange3. По данным с учетом частоты встречаемости видов в комплексах культивируемых микромицетов. Обозначения: 1 – экорегион (R), 2 – субрегион (SR), 3 – рельеф, 4 – почва, 5 – обозначение местообитания как в таблице 1. Экорегион и субрегион приведены в соответствии с Vu Tan Phuong et al., 2011 "Final Report on Forest Ecological Stratification in Vietnam".

**Диаграммы ординации исследованных ООПТ по видовому составу.** Для исследованных нами участков лесов в ООПТ Вьетнама были получены соответствующие диаграммы ординации, которые демонстрируют, что комплексы микромицетов из изученных образцов разных типов субстратов формируют четко обособленные группы. На представленной ниже диаграмме (рис. 7) для совокупности видов, выделенных из образцов всех участков леса отдельной ООПТ видно, что точки немного расходятся в зависимости от типа рельефа местности и типа почв (Герасимова, Красильников, 2015), по другим параметрам (климатические параметры, тип субстрата, регион Вьетнама, экорегион, режим увлажнения и т.д.) группировка точек ООПТ не наблюдается.



**Рисунок 7.** Ординация выявленного видового состава почвообитающих микроскопических грибов исследованных ООПТ Вьетнама. Метод главных компонент с использованием меры отличия Брея-Кёртиса в программе PCO3 (Anderson, 2003) по данным с учетом присутствия/отсутствия видов (стандартизация отсутствует, оси описывают 31% видового разнообразия). Обозначения ООПТ как в таблице 1. А – по видовому составу с учетом типа рельефа местности, Б – по видовому составу с учетом типа почвы.

### Анализ показателей разнообразия исследованных местообитаний.

Проведена оценка зависимости количественных характеристик и показателей разнообразия комплексов культивируемых почвообитающих микромицетов от отдельных климатических и биотических факторов. Наибольшее видовое богатство микромицетов и разнообразие отмечено в первичных тропических лесах, в слабонарушенных сообществах видовое богатство остается на том же уровне, а показатели видового разнообразия сокращаются. В интразональных местообитаниях оба показателя самые низкие. При рассмотрении влияния состава древесных пород, отмечено, что наибольшее видовое разнообразие микромицетов характерно для лесов полидоминантных или с преобладанием широколиственных пород, оно ниже в монодоминантных лесах, и самое низкое в лесах с доминированием голосеменных древесных пород. Отмечена зависимость от рельефа, наибольшим разнообразием было в равнинных местообитаниях, а в предгорных, низкогорных и среднегорных лесах оно существенно не отличалось. Тип субстрата имеет существенное значение, видовое богатство и индексы разнообразия принимают наибольшее значение в почве, наименьшее – в опаде, а в образцах «воздушной почвы» из корзинок эпифитов эти параметры имеют среднее значение. Режим увлажнения не оказывает значительного влияния на параметры видового богатства и индексы разнообразия исследуемых территорий, однако, как было показано выше, он заметно влияет на формирование видового состава микромицетов переувлажненных местообитаний.

**Многофакторный дисперсионный анализ (MANOVA).** Для анализа были взяты независимые переменные: параметры участков лесов в 10 ООПТ Вьетнама (всего 31 участок), для которых были получены данные (зависимые переменные в нашем случае) о КОЕ (количеству колониеобразующих единиц в образце), количестве видов микроскопических грибов на участке леса, количестве видов грибов в отдельном образце из данного местообитания, выравненности видовых обилий, а так же индексах биологического разнообразия: обратная форма индекса Симпсона, индекс Шеннона. В результате проведения многомерного анализа (табл. 4) гипотеза о том, что исследуемые зависимые переменные различаются по региону, типу почвы и совместному влиянию данных факторов отвергается, только на уровне статистической тенденции удалось выявить влияние фактора «Экорегиян»: по нему  $p\text{-value}=0.05098$ , а след Пиллаи 0.53768.

**Таблица 4.** Результаты многофакторного дисперсионного анализа (MANOVA) в RStudio (Вер. 2023.12.1.) с использованием пакетов *caret*, *tidyverse*, *dplyr*, *ggplot2*, *reshape2* (функции *manova* и *melt*).

Факторные переменные	Степени свободы	Pillai (След Пиллаи)	p-value
«Регион»	1	0.04652	0.90147
«Экорегиян»	3	<b>0.53768</b>	<b>0.05098</b>
«Тип почвы»	4	0.29585	0.91240
Пара «Регион и тип почвы»	1	0.11485	0.46873
Пара «Экорегиян и тип почвы»	3	0.39725	0.29420

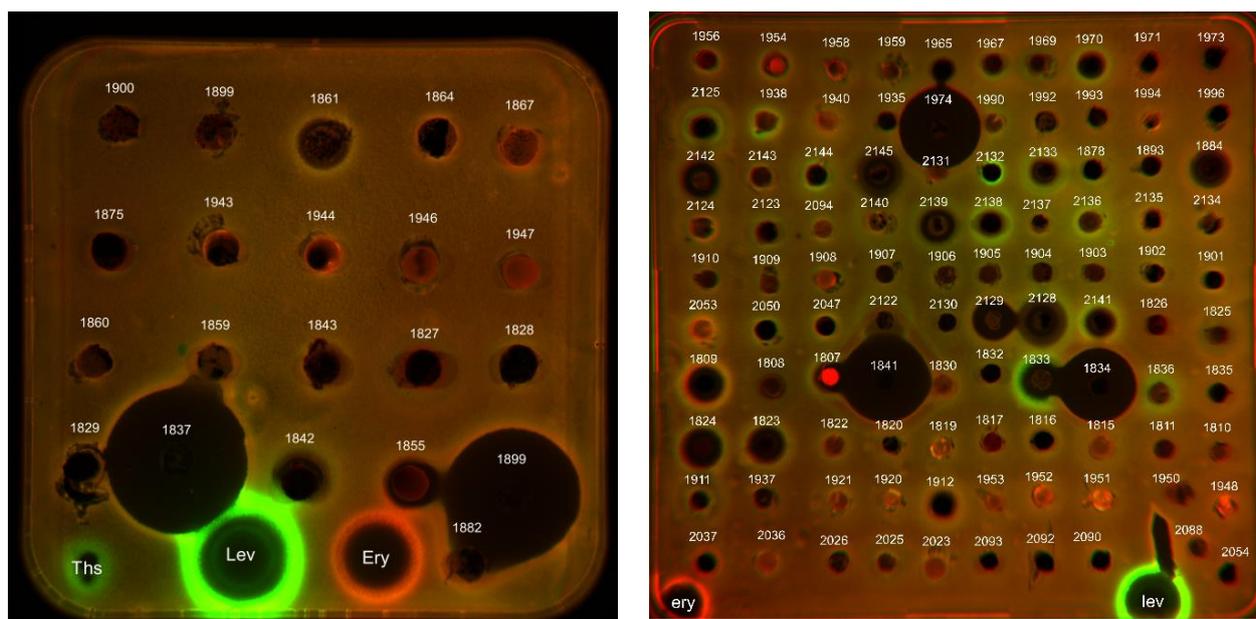
#### Глава 4. Биотехнологический потенциал коллекционных штаммов микромицетов Вьетнама.

**Пополнение коллекции чистых культур микроскопических грибов.** По итогам данной работы коллекция чистых культур микромицетов пополнена на 1082 изолята. Она активно используется для поиска грибов-продуцентов биологически активных веществ, а также в учебном процессе.

**Исследование антибиотической активности штаммов микромицетов в отношении госпитальных инфекций** выполнено в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» на следующих тест-объектах: штаммах *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, бактериальных культурах, вызывающих мягкие гнили овощей и луковичных *Pseudomonas fluorescens* и грибе *Candida albicans*. Среди проанализированных 597 штаммов, около 20% обладают антибиотической активностью (выявлен 121 штамм грибов-антагонистов). Штаммы с зонами подавления 20 мм и выше обнаружены в родах *Chaetomium*, *Clonostachys*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Gongronella*, *Hamigera*, *Humicola*, *Malbranchea*, *Microdochium*, *Nodulisporium*, *Oidiodendron*, *Stilbella*, *Trichoderma*. Самые широкие зоны подавления роста патогена отмечены у микромицетов в родах *Aspergillus*, *Beauveria*, *Clonostachys*, *Oedocephalum*, *Penicillium*, *Simplicillium*, *Trichoderma*. Выявлены 6 перспективных штаммов 5 видов: *Cosmospora berkeleyana* (P. Karst.) Gräfenhan, Seifert & Schroers, *Clonostachys candelabrum* (Bonord.) Schroers, *Ilyonectria destructans* (Zinssm.) Rossman, L. Lombard et Crous, *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones et Samson, и *Penicillium thomii* Maire, обладающие антибиотиками широкого спектра действия, подавляющие сразу 5 бактериальных тест-культур из 8. Эти виды можно выделить как из почв на территории России, так и из почв Вьетнама. Однако наиболее перспективны с точки зрения дальнейшего изучения свойств и дальнейшей работы по выявлению антибиотической активности в отношении возбудителей госпитальных инфекций Вьетнамские штаммы, так как они выделяют вещества, имеющие более широкий спектр действия на бактерии разных групп, а также действуют более эффективно, образуя большие зоны подавления тест-культур.

**Результаты скрининга почвенных микромицетов продуцентов фермента бета-маннаназы.** Бета-маннаназы, используемые для обработки сырья в пищевой промышленности и сельском хозяйстве, вырабатываются в том числе и почвенными микромицетами. В результате скрининга 100 коллекционных штаммов, выделенных из ООПТ Вьетнама, отобрано 17, которые показали высокую активность фермента, 5 – среднюю и 6 штаммов – низкую. Среди активных продуцентов большинство – представители родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Fusarium*, что согласуется с литературными данными по поиску видов-продуцентов этих ферментов. В результате подбора среды культивирования было показано, что оптимальными условиями для культивирования микромицетов является среда без дрожжевого экстракта и с минимальным содержанием сахарозы, активность фермента лучше проявляется на 4-е сутки культивирования. По итогам скрининга 4 штамма *Aspergillus* sp. были отобраны как перспективные для дальнейшей работы по очистке фермента и трансформации продуцента.

**Результаты исследования антибиотической активности в отношении модифицированных штаммов *Escherichia coli*.** Было проведено первичное тестирование 120 коллекционных штаммов микромицетов, выделенных из природных субстратов Вьетнама, в отношении двух штаммов бактерий, содержащих плазмиду pDualrep2 (*E.coli*  $\Delta$ tolCpDualrep2 (Amp<sup>R</sup>) и *E.coli* BWlptDpDualrep2 (Kan<sup>R</sup>)). Плазида существует в двух вариантах – с геном устойчивости к ампициллину (Amp<sup>R</sup>) или с геном устойчивости к канамицину (Kan<sup>R</sup>) – и по индукции флуоресценции позволяет различать антибиотики, вызывающие SOS-ответ и антибиотики, ингибирующие биосинтез белка. Таким образом, помимо диаметра зоны подавления роста бактериальных тест-культур получены первичные данные относительно возможного механизма действия антибиотиков, производимых исследуемыми грибами. Спустя сутки совместного инкубирования блоков с культурами грибов на газоне бактерий проявились зоны подавления роста тест-культур. Изображения, полученные с помощью системы визуализации ChemiDoc (рис. 8) в двух флуоресцентных каналах Cy3 и Cy5 приведены на рисунке 8. Анализ показал, что наиболее перспективны для дальнейшего изучения 10 штаммов: № 1809 *Cordana terrestris*, № 1823 *Penicillium* sp., № 1824 *Penicillium javanicum*, № 1833 *Aspergillus alliaceus*, № 1834 *Aspergillus clavatus*, № 1837 *Trichoderma virens*, № 1841 *Trichoderma virens*, № 1883 *Trichoderma virens* № 1974 *Aspergillus clavatus*, № 2128 *Penicillium aurantiogriseum*. Для них были подобраны оптимальные условия культивирования на жидких питательных средах, в дальнейшем анализе использовали полученные культуральные жидкости на 7-е и 10-е сутки роста. С ними в настоящее время ведется работа по идентификации активных соединений. Удалось определить, что штамм № 1837 *Trichoderma virens* производит конинговую (гептелидовую) кислоту, которая является селективным необратимым ингибитором глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и ингибитором ДНК-полимеразы.



**Рисунок 8.** Результаты тестирования спустя сутки совместного инкубирования бактерий с тест-культурами микромицетов. Изображение получено с помощью системы визуализации ChemiDoc, номерами обозначены коллекционные штаммы грибов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

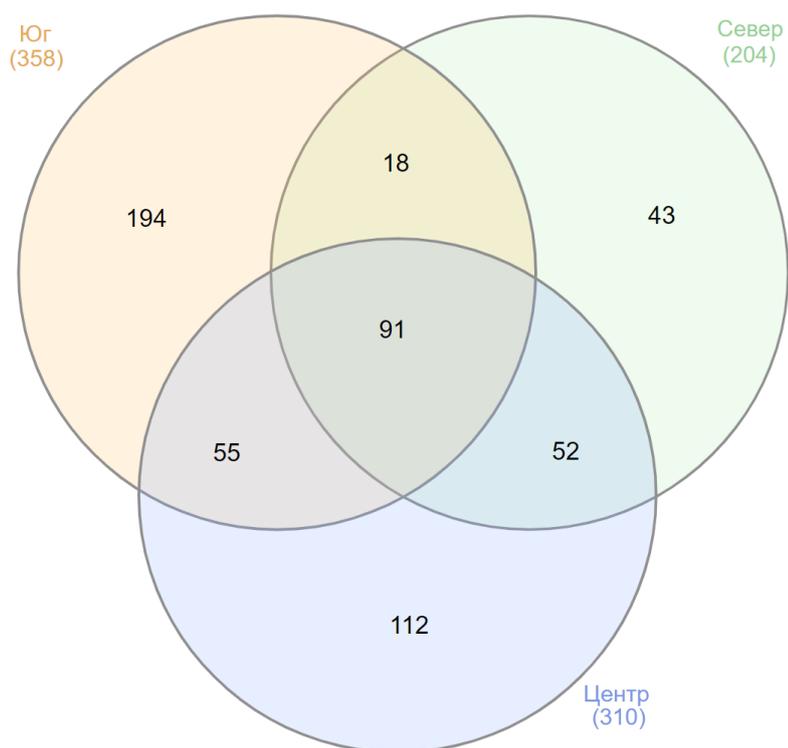
Довольно много исследований микромицетов тропиков имеет прикладной характер: много работ посвящено изучению видового состава грибов, специфически связанных с определенными видами растений и различными типами субстратов. Кроме того, значительно различаются методы исследования видового состава и способы определения видовой принадлежности, а дополнительную сложность создаёт нестабильность систематического положения и видовых названий даже самых распространенных микроскопических грибов. Это приводит к трудностям при составлении полного списка микобиоты тропических регионов.

Природные условия Вьетнама очень неоднородны, они формируют огромное разнообразие биотопов, в связи с чем микромицеты этих территорий отличаются сильно варьирующим видовым составом. Систематическое изучение видового разнообразия, особенностей распространения, освоения субстратов и экологии культивируемых микроскопических грибов из различных субстратов лесных экосистем Вьетнама преимущественно на основе культурально-морфологических методов проводится с 2009 года Александровой А.В. с соавторами. Ранее опубликованы списки микромицетов, обнаруженных в ходе исследования территорий национального парка Катъен (Александрова, Сидорова, 2011) и типичных лесов юга Вьетнама на примере национальных парков Донгнай, Бидуп-Нуйба, Чуянсин и Локбак (Калашникова, 2016). Эти исследования выявили 358 видов микроскопических грибов на территории южного Вьетнама в 5 различных ООПТ. Подобные широкомасштабные работы по изучению разнообразия почвообитающих культивируемых микромицетов в 10 ООПТ центрального и северного регионов Вьетнама проведены впервые. В результате данной работы (на территории 10 ООПТ центрального и северного регионов) список почвообитающих микромицетов исследованных территорий Вьетнама был пополнен ещё на 194 вида (рис. 9). Анализ полученных в ходе этого исследования данных позволит выявить особенности видового состава микроскопических грибов и оценить влияние конкретных условий местообитания на их группировки.

На рисунке (рис. 9) представлено сравнение видовых списков грибов, обнаруженных в трех биогеографических регионах Вьетнама. Коэффициент флористического сходства Жаккара ( $K_j$ ) попарно: юг-центр = 28%, юг-север = 24%, север-центр = 39%.

Как видно, только 16% (91 вид из 552) от общего числа сравниваемых видов встречены во всех трех регионах, в то время как каждый из обозначенных регионов отличался уникальным видовым составом. Меньшее, по сравнению с центром и югом, число уникальных видов, выявленных в северном регионе, можно объяснить меньшим числом исследованных лесов.

Установленные особенности в видовом составе тропических лесов центрального и северного Вьетнама соответствует общим тенденциям географического распределения почвообитающих микроскопических грибов в целом. По представленности таксономических групп культивируемых микромицетов, составу доминантных видов в видовых комплексах прослеживаются отличия между различными экорегионами и субрегионами Вьетнама.



**Рисунок 9.**

Диаграмма Венна, отображающая сходство видового состава микроскопических грибов исследованных территорий Вьетнама.

Исследование таксономической структуры и функциональной активности комплексов микроскопических грибов в почве и на растительном опаде таких интересных, богатых и уникальных природных сообществ как тропические лесные экосистемы, позволяет провести некоторую оценку роли грибов в протекающих процессах и их взаимосвязей со всеми компонентами биоценоза.

Выделенные в ходе данного исследования культуры микромицетов дополнили коллекцию кафедры микологии и альгологии. Для части коллекционных штаммов была продемонстрирована антагонистическая и ферментативная активность, их метаболиты могут быть использованы в медицинских и биотехнологических целях, работа с ними продолжается в настоящее время.

В связи с описанными выше фактами на данных территориях необходимо продолжение микологических исследований, сочетающих традиционные подходы с применением современных молекулярных методов, а также охват работами новых регионов, что позволит в будущем на основании новых данных продолжить обсуждение вопроса закономерностей распространения микромицетов в тропических регионах и их биотехнологического потенциала.

## ВЫВОДЫ

1. В исследованных особо охраняемых тропических лесах центрального и северного регионов Вьетнама выявлен 371 вид культивируемых микроскопических грибов, относящихся к 135 родам, при этом впервые для микобиоты страны отмечено 194 вида.
2. Таксономическая структура микобиоты: отдел *Mucoromycota* представлен 20 видами, отдел *Mortierellomycota* – 4 видами, отдел *Basidiomycota* включал 5 видов, а остальные – принадлежат отделу *Ascomycota*, ведущими порядками являются *Eurotiales* (133 вида, 36%) и *Hydroziales* (104 вида, 28%).
3. Изученные местообитания отличаются как по численности почвенных грибов, так и по количеству КОЕ микромицетов. Этот показатель самый высокий на листовом опаде (от  $973 \pm 72$  тыс/г и до  $177 \pm 0,9$  тыс/г), а количество видов (от 52 до 19) в большинстве случаев самое высокое в образцах почвы, значения этих параметров для «воздушной почвы» занимают промежуточное значение.
4. Методом многофакторного дисперсионного анализа показано, что количественные характеристики и показатели разнообразия комплексов почвообитающих микромицетов изученных местообитаний сильнее всего зависят от фактора «экорегиян», объединяющего климатические и географические особенности территории.
5. Видовой состав микромицетов в большей мере зависит от конкретных условий микрорестообитаний: типа субстрата, почвы, рельефа местности, а также гидрологического режима, а климатические параметры имеют меньшее значение.
6. Только 16% от общего числа видов микромицетов на сравниваемых территориях встречены во всех трех регионах Вьетнама (центральном, северном и южном), большинство из них – космополитные виды, в то время как уникальные виды для каждого региона связаны со специфическими субстратами в тропических лесах.
7. Среди проанализированных 597 штаммов микроскопических грибов около 20% (121 штамм) обладают антибиотической активностью в отношении госпитальных инфекций.
8. Среди проанализированных 120 коллекционных штаммов микроскопических грибов Вьетнама в отношении модифицированных *Escherichia coli* для идентификации биологически активных соединений отобрано 10 перспективных штаммов.
9. По итогам скрининга 100 штаммов для очистки фермента бета-маннаназы и трансформации продуцента отобрано 4 штамма *Aspergillus spp.*

**Список публикаций в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных WoS, SCOPUS и базе ядра Российского индекса научного цитирования "eLibrary Science Index", рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова»**

1. **Антонова И.И.**, Александрова А.В., Антонов Е.А., Волынкина И.А., Лукьянов Д.А. Микроскопические культивируемые грибы предгорных лесов национального парка Бузямап (Вьетнам). Микология и фитопатология. 2024. V. 58 (3). С. 177–194 [Scopus, SNIP=0.431, SJR=0.216] 1.59/1.19 (здесь и далее приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора в печатных листах)

*Вклад автора заключается в обработке природных субстратов, выделении чистых культур микромицетов, их идентификации, формировании и сопровождении коллекции штаммов, статистической обработке и обобщении результатов, тестировании антибиотической и ферментативной активности коллекционных культур, написании основного объема текста публикации и дальнейшей её подготовке к печати.*

2. Антонов Е.А., Александрова А.В., **Антонова И.И.** Современная таксономия и подходы к идентификации рода *Talaromyces* (Trichosomaceae, Eurotiales). Микология и фитопатология. 2024. V. 58 (1). С. 3–18 [Scopus, SNIP=0.431, SJR=0.216] 1.67/0.2

*Вклад автора заключается в подборе и анализе литературных данных по наиболее распространенным тропическим представителям рода.*

3. Alexandrova A.V., **Aldobaeva I.I.**, Kalashnikova K.A., Kuznetsov A.N. Influence of environmental factors on the structure of soil microfungi of Vietnamese tropical forests // Contemporary Problems of Ecology. 2018. Vol. 11. No. 5. P. 472–483. [Scopus, SNIP=0.615, SJR=0.259] (Александрова А.В., **Алдобаева И.И.**, Калашникова К.А., Кузнецов А.Н. Влияние факторов окружающей среды на структуру комплексов почвообитающих микроскопических грибов Тропических лесов Вьетнама. // Сибирский экологический журнал. 2018. Изд-во СО РАН (Новосибирск). № 5. С. 545–558. (RINC 2022=0,842)) 1.11/0.56

*Вклад автора заключается в обработке природных субстратов, выделении чистых культур микромицетов из различных ООПТ Вьетнама, их идентификации, формировании и сопровождении коллекции штаммов, написании части текста публикации и взаимодействии с рецензентами, внесении правок в статью при подготовке к печати.*

4. **Алдобаева И.И.**, Александрова А.В. Почвообитающие микроскопические грибы светлого диптерокарпового леса (Национальный парк Йокдон, Вьетнам) (Soil-inhabiting microscopic fungi of the dry deciduous Dipterocarpaceous forest (National Park Yok Don, Vietnam)) // Микология и фитопатология. 2018. Т.52. №.1. С. 22–29. [Scopus, SNIP=0.431, SJR=0.216] 0.82/0.62

*Вклад автора заключается в обработке природных субстратов, выделении чистых культур микромицетов, их идентификации, формировании и сопровождении коллекции штаммов,*

*статистической обработке и обобщении результатов, написании основного объема текста публикации и дальнейшей её подготовке к печати.*

5. **Алдобаева И.И., Александрова А.В.** Почвообитающие грибы Волго-Ахтубинской поймы (Soil inhabiting microfungi from typical habitats of the Volga-Akhtuba floodland) //Микология и фитопатология. 2017. Т.51. №. 6. С. 319–327. [Scopus, SNIP=0.431, SJR=0.216] 0.99/0.75

*Вклад автора заключается в обработке природных субстратов, выделении чистых культур микромицетов, их идентификации, формировании и сопровождении коллекции штаммов, статистической обработке и обобщении результатов, написании основного объема текста публикации и дальнейшей её подготовке к печати.*