

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Антонов Евгений Андреевич

**Микромицеты *Talaromyces* С.Р. Венҗ.: видовое богатство в
новых границах рода**

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 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель: *Александрова Алина Витальевна*
доктор биологических наук

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

Власов Дмитрий Юрьевич – доктор биологических наук, доцент, профессор ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета», Биологического факультета, кафедры Ботаники

Иванушкина Наталья Евгеньевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН, отдел Всероссийская коллекция микроорганизмов

Защита диссертации состоится «13» декабря 2024 года в 17 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

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский проспект, д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3210>

Автореферат разослан «___» ноября 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Д.М. Гершкович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень разработанности. *Talaromyces* – род микроскопических грибов, который был введен Ч. Р. Бенджамином в 1955 году для половой стадии некоторых представителей рода *Penicillium* (Benjamin, 1955) с клейстотециями, имеющими рыхлый перидий. Последовательности ДНК для видов *Talaromyces* стали появляться с 1990-х годов и продемонстрировали тесную связь телеоморф *Talaromyces* с анаморфами рода *Penicillium* subgenus *Biverticillium*, показав, что род *Penicillium* (в широком смысле) не является монофилетическим (Verbee et al., 1995). В условиях принятого в 2011 году отказа от двойной номенклатуры для половых и бесполовых форм размножения (Hawksworth et al., 2011), *Talaromyces* стал идеально соответствовать принципу «один гриб – одно название»: внутри рода сложилась ситуация, когда одной телеоморфе соответствует одна анаморфа. И сразу, основываясь на результатах полифазного подхода к таксономии рода, все виды из *Penicillium* subgenus *Biverticillium* были включены в род *Talaromyces*, образовав монофилетическую кладу, удаленную от других подродов *Penicillium* (Samson et al., 2011).

С определением границ видов внутри рода ситуация сложилась гораздо сложнее – фенотипические признаки значительно варьируют в зависимости от условий культивирования, что серьезно затрудняет идентификацию только по морфологии. Виды в роде *Talaromyces* легко образуют анаморфное спороношение (и реже телеоморфное), это было удобно для создания классификации на основе морфологических признаков бесполого спороношения. Однако при внедрении молекулярной систематики, основанной на более надежных молекулярных признаках эти системы оказались плохо совместимы (Gams, 2016; Ганнибал, 2021).

Значительная часть новых видов была описана после 2011 года, в первую очередь благодаря внедрению молекулярно-генетических методов. На данный момент накоплен огромный пул молекулярных маркёров для сравнения и реконструкции филогении, выявлен вторичный ДНК-штрихкод, имеющую высокую, разрешающую способность внутри рода. Таким образом, род *Talaromyces* представляет собой оптимальный объект для изучения: полная монофилия рода, огромное видовое разнообразие, повсеместная встречаемость, наличие крупного массива молекулярно-генетических и морфологических данных для сравнения.

Изучение видов рода *Talaromyces* имеет значение, как для фундаментальной науки (описание новых таксонов, исследование их роли в экосистемах как деструкторов опада, влияния на циклы биогенных элементов и др.), так и для прикладной науки. Виды грибов из этого рода по значимости для человека можно разделить на две группы: во-первых, важные для биотехнологии, использующиеся для получения ферментов (эндоглюконазы, целлюлазы) и растворимых пигментов (производные азафилонина и эргостерола), во-вторых, виды-биодеструкторы и клинически значимые виды, включающие в себя патогены человека и животных.

Увеличение распространенности технологий секвенирования способствовало накоплению значительного количества последовательностей ДНК, большинство из которых общедоступны. Открытие универсальных генетических участков и внедрение процедуры ДНК-штрихкодирования позволило сравнивать свои данные

исследователям по всему миру. Для грибов таким претендентом на универсальность оказался участок внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS), рекомендованный как первичный ДНК-штрихкод для различных групп грибов (Schoch et al., 2012; Lücking et al., 2020). Однако для значительной части таксонов (~17%), в том числе и для рода *Talaromyces*, было показано, что ITS является малоинформативным, поэтому они не могут быть надежно идентифицированы до видового уровня (Vu et al., 2019; Lücking et al., 2020). Вторичные ДНК-штрихкоды – в основном белок кодирующие участки, всё чаще внедряются для внутривидовой идентификации, где ITS не обеспечивает достаточной точности (Tekpinar, Kalmer, 2019).

Изучение видового разнообразия микроскопических грибов невозможно без создания коллекции культур (Hawksworth et al., 2011; Озерская, 2012), а в последнее время и молекулярно-генетических исследований в связи с описаниями видов с фенотипически близкими или неотличимыми признаками (виды-двойники). Это актуально и для рода *Talaromyces*, число видов которого выросло практически втрое с 2011 года, с 71 (Samson et al., 2011) до 205 видов (наши данные). Большая часть новых видов описана из стран Азии, второй регион по количеству новых видов – Северная Америка. Для России и Вьетнама, по литературным данным, видовое разнообразие рода *Talaromyces* не превышает 25 и 20 видов соответственно.

Таким образом, смещение акцента в системе грибов с морфологических на молекулярные признаки, отказ от двойной номенклатуры плеоморфных грибов, взрывной рост количества новых видов, слабо исследованные территории привело к необходимости переоценки видового богатства рода *Talaromyces* для России и Вьетнама.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы — провести ревизию доступных культур грибов рода *Talaromyces*, используя комплексный подход, включающий морфологический и молекулярно-генетический методы.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Создать базу данных по видовому разнообразию и распространению видов рода *Talaromyces* на основе анализа литературных данных и оригинальных материалов.

2. Провести верификацию коллекционных штаммов рода *Talaromyces* с использованием молекулярных и культурально-морфологических критериев.

3. Пополнить коллекцию культур рода *Talaromyces* новыми сборами из Вьетнама. Оценить распространенность и субстратную приуроченность видов *Talaromyces* во Вьетнаме.

4. Провести филогенетический анализ видов рода *Talaromyces* с использованием полученных в ходе работы последовательностей ДНК и референсных последовательностей из базы данных GenBank.

Объект исследования. Микроскопические грибы рода *Talaromyces* (Ascomycota, Trichosomaceae) из коллекции кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ и собственных сборов из Вьетнама.

Научная новизна. Данная работа – важный шаг в понимании реального видового богатства рода *Talaromyces*. Проведен подсчет общего количества описанных видов рода в мире, проанализирована их субстратная приуроченность.

Впервые было проведено исследование с использованием комплексного подхода с применением классических и современных методов идентификации и верификации видов рода *Talaromyces* в таких малоизученных регионах как Россия и Вьетнам, для которых были получены первые последовательности ДНК. Основной акцент в работе сделан на молекулярной верификации и анализе ДНК-штрихкодов, как для пересмотра разнообразия рода *Talaromyces*, так и для пополнения общедоступных баз данных. Значительно расширены списки известных видов *Talaromyces* для исследованных территорий, большинство видов в этих регионах ранее не были отмечены – для России стали новыми 13 видов, а для Вьетнама 19 видов, также выявлены потенциально новые виды и секция внутри рода.

Теоретическая и практическая значимость работы. Во время исследования было проанализировано и верифицировано 176 штаммов из коллекции кафедры микологии и альгологии с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов, отработана методика идентификации видов рода *Talaromyces*. Коллекция пополнена 45 штаммами (15 видами) из Вьетнама. Для 165 штаммов получены ДНК-штрихкоды по участку гена бета-тубулина (BenA). Проведен анализ молекулярной филогении (отдельно для *Talaromyces* sect. *Talaromyces* и отдельно для видов *Talaromyces* из других секций) на основе 165 оригинальных и 151 референсных последовательностей ДНК.

Показано, что реальное разнообразие рода *Talaromyces*, выявляемое с применением молекулярной систематики значительно выше, чем при использовании только морфологических признаков. Выявлено 15 видов *Talaromyces*, являющихся потенциально новыми для науки видами, из которых 1 вид, потенциально может принадлежать новой секции рода *Talaromyces*. Проанализирована частота встречаемости и субстратная приуроченность, выявлены как типичные и широко распространённые, так и редкие виды *Talaromyces*. Составлена литературная база данных по всем представителям рода *Talaromyces*, и база данных ДНК-штрихкодов. Последовательности ДНК, полученные в ходе работы депонированы в базу данных GenBank и внесут значительный вклад при изучении территории России и Вьетнама.

Методология и методы исследования. В исследовании использованы как классические методы для работы с микроскопическими грибами: почвенный посев, выделение чистых культур на питательные среды, световая микроскопия, так и современные методы для получения ДНК-штрихкодов: выделение ДНК, полимеразно-цепная реакция (ПЦР), секвенирование. Для обработки полученных последовательностей ДНК использованы методы компьютерного анализа: поиск сходных нуклеотидных последовательностей и филогенетический анализ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Видовое разнообразие рода *Talaromyces* очень высоко и, на данный момент, в значительной степени не выявлено.
2. Только культурально-морфологические критерии не позволяют достоверно определять виды данного рода.
3. Для рутинной идентификации штаммов рода *Talaromyces*, в дополнение к морфологии, может быть использована последовательность ДНК гена бета-тубулина (BenA) в качестве единственного ДНК-штрихкода.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных результатов обеспечивается выбором как классических, так и современных методик исследования, большим объемом полученных данных. В работе использован точный метод ДНК-штрихкодирования и филогенетический анализ для выявления родственных связей и подтверждения таксономической принадлежности.

Результаты исследования представлены на заседании кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ и 2 конференциях: Всероссийская конференция с международным участием «Микология и альгология в России. XX – XXI век: смена парадигм» (Москва, 2018) и изучение микроскопических культивируемых грибов в национальных парках Вьетнама (Москва, 2020). *Talaromyces pratensis* IBPPM RAS 664 протестированный на возможность использовать полиэтилентерефталат (Позднякова и др., 2022), четыре штамма рода *Talaromyces* из эксперимента SIRIUS-19 (Kalechits et al., 2022), а так же штаммы из нацпарка Бузямап (Антонова и др., 2024) были идентифицированы автором.

Личный вклад автора. Личный вклад автора присутствует на каждом этапе выполнения диссертации и заключается в постановке задач, планировании и проведении исследования, разработке методик, работе с коллекцией, выделении чистых культур *Talaromyces* из природных субстратов, полученных в ходе двух полевых экспедиций во Вьетнам, видовой идентификации этих культур и их криоконсервация, обработке и обобщении полученных результатов, создании из них баз данных. Автор самостоятельно провел все этапы по работе с ДНК (выделение, ПЦР, электрофорез), кроме секвенирования, а также обработку данных секвенирования, филогенетический анализ и последующее депонирование в GenBank. Автором подготовлены к публикации статьи по результатам работы, вклад автора в каждую из них указан в списке публикаций.

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых (индексируются в Scopus, WoS и RSCI) журналах, рекомендованных для защиты в МГУ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка использованной литературы и 6 приложений. Общий объем составляет 138 страниц, включая приложения, работа содержит 22 таблицы, 43 фотографии, 6 рисунков. Список литературы включает 192 источника (28 отечественных и 164 зарубежных). Приложения содержат списки штаммов, использованных в работе, номера базы данных GenBank для депонированных последовательностей ДНК, последовательности потенциально новых видов, списки референсных последовательностей, а также данные о частоте встречаемости и субстратной приуроченности.

Благодарности. Выражаю особую благодарность своему научному руководителю, Александровой Алине Витальевне за всестороннюю помощь и обучение на всех этапах работы. Благодарю сотрудников кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ за ценные замечания и комментарии к диссертации, сотрудников Тропического центра за организацию экспедиций, помощь в сборе образцов и ознакомление с природой Вьетнама. Я благодарю всех моих друзей и близких за поддержку на всём протяжении работы.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы приведены общие сведения о семействе Trichosomaceae E. Fisch. (sensu stricto), а также рассмотрены особенности морфологии и экологии родов, входящих в него: *Dendrosphaera*, *Trichocoma*, *Rasamsonia*, *Sagenomella*, *Thermomyces*, *Acidotalaromyces*, *Ascospirella* и *Talaromyces*. Особое внимание уделено роду *Talaromyces* – самому обширному и значимому. Обсуждены ключевые изменения в понимании объема и структуры рода, проанализированы литературные источники, в которых была показана полифилия рода *Penicillium* и обособленность от него *Talaromyces*. Приведена историческая ретроспектива изменений разбиения рода на секции. Уделено внимание общему видовому разнообразию, субстратной приуроченности его представителей, как в мире, так в России и Вьетнаме. Помимо этого, описаны особенности морфологической и молекулярной идентификации, перечислены требования и рекомендации, необходимые для достоверного разделения видов *Talaromyces*, показаны различные подходы к выбору генов для молекулярной филогении. Рассмотрены прикладные аспекты, клиническая и биотехнологическая значимость представителей рода.

Глава 2. Материалы и методы исследования

2.1 Штаммы, использованные в работе

Всего в работе было использовано 176 штаммов микроскопических грибов (148 из Вьетнама и 28 из России), 175 из которых принадлежат к видам рода *Talaromyces*, а 1 штамм – к виду *Ascospirella lutea* (ранее был известен как *Talaromyces luteus*). Часть штаммов были взяты из коллекции кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Данные штаммы были выделены и помещены на хранение в коллекцию по результатам работы с субстратами, собранными из экспедиций Александровой А.В. по России и Вьетнаму с 1999 года. Один штамм (IBPRM RAS 664) был получен из института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Саратовского научного центра Российской академии наук. 45 штаммов рода *Talaromyces* были выделены автором в ходе двух экспедиций по ООПТ Вьетнама: 1) в ноябре-декабре 2019 года (национальный парк Каттъян); 2) в декабре 2020 года – январе 2021 (национальный парк Каттъян и заповедник Контюранг) на базе Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра, который является филиалом Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова (ИПЭЭ РАН).

Посев отобранных субстратов почвы и опада на тверд питательную среду МЕА методом серийных разведений З. Ваксмана в модификации Д.Г. Звягинцева (Методы..., 1991) из национального парка Каттъян осуществлен непосредственно в стационаре. Пробы из национального парка Контюранг доставлены и обработаны (аналогичным образом) по возвращении в Москву.

2.2 Оборудование и материалы для работы с коллекционными штаммами микромицетов

Штаммы коллекции выводили из криоконсервации и убедившись в жизнеспособности культуры, проводили её трехточечный пересев в трёх повторностях на два типа питательных сред: среда Чапека с дрожжевым экстрактом (СYA) и сусло-агар (МЕА). Штаммы инкубировали при температурах 25°C и 30°C, после чего фиксировали фенотипические признаки на 7 и 21 дни. Макроморфологические признаки фиксировали с использованием цифровой камеры Nikon D5300. Для анализа микроморфологических признаков использовали световой микроскоп Leica D500 с камерой Leica ICC50 HD. Для приготовления препаратов использовали 60% молочную кислоту. После фиксации фенотипических признаков, с чашек Петри собирали биомассу мицелия. Полученную биомассу помещали в микропробирки и помещали в морозильную камеру (-20°C) до дальнейшего выделения ДНК.

2.3 Выделение, амплификация, электрофорез и секвенирование ДНК

Для получения геномной ДНК использовали СТАВ буфер по стандартной методике (Колесников и др., 2003). Для проведения полимеразно-цепной реакции (ПЦР) и секвенирования использовали пары праймеров указанные в таблице 1. Протоколы отжига праймеров были взяты из литературных источников. ПЦР проводили на амплификаторе Bio-Rad T100 (США). Синтез праймеров осуществила компания ЗАО «Евроген» (Россия, Москва).

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе.

Локус	Праймер	Последовательность (5'–3')	Работа
Ген бета-тубулина (BenA)	Vt2a	(Пр.) GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	(Glass, Donaldson, 1995)
	Vt2b	(Обр.) ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	
Ген второй субъединицы РНК-полимеразы II (RPB2)	fRPB2-5F	(Пр.) GAY GAY CGK GAY CAY TTC GG	(Houbraken et al., 2012; Visagie et al., 2014)
	fRPB2-7R	(Обр.) CCC ATR GCY TGY TTR CCC AT	
Внутренний транскрибируемый спейсер (ITS)	ITS1	(Пр.) TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	(White et al., 1990)
	ITS4	(Обр.) TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	

Для молекулярной верификации штаммов был выбран участок гена бета-тубулина (BenA), показавший лучшую разрешающую способность из трех локусов: ITS, RPB2 и BenA. Всего для ITS и RPB2 получено по 20 последовательностей ДНК для каждого. Участок BenA, использованный в работе для получения ДНК-штрихкодов и ограниченный парой праймеров Vt2a/Vt2b имеет длину около 450-550 н.п. (рисунок 1).

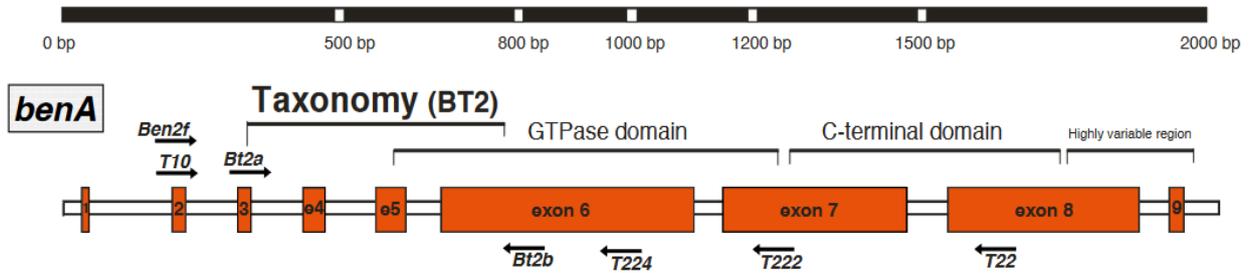


Рисунок 1. Экзон-интронная структура гена бета-тубулина *BenA*. Положение праймеров *Bt2a/Bt2b* для амплификации участка *BenA* показано стрелками. По Hübka и Kolarik (2012) с изменениями.

Для проведения ПЦР использовали смесь ScreenMix от ЗАО «Евроген» (Россия, Москва), состоящую из полимеразы, буфера, утяжеляющих красителей и дезоксинуклеотидтрифосфатов. Для проверки компонентов реакции на отсутствие в них контаминации и исключения учета ложноположительных результатов в каждой партии амплифицируемых образцов ставили отрицательный контроль. Успешность амплификации оценивали при помощи электрофоретического разделения ПЦР-продуктов в 1%-ом агарозном геле. Очистку ДНК осуществляли с использованием спин-колонок и реактивов из набора Cleanup Standard компании ЗАО «Евроген» (Россия, Москва) согласно инструкции. Секвенирование ДНК проводила компания ЗАО «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.

Для поиска нуклеотидных последовательностей использовали алгоритм BLAST (blastn), встроенный в базу данных NCBI GenBank. Параметры поиска оставлены по умолчанию. Перед поиском BLAST все последовательности проходили дополнительную обработку – обрезали краевые концы (20-30 п.н.), после чего прямую и обратную последовательности попарно выравнивали для получения консенсусной последовательности в программе MEGA11 (Tamura et al., 2021).

Результаты поиска гомологичных последовательностей считали успешными, если процент идентичности каждой последовательности (Percent Identity) был более 98%, область перекрытия (Query Coverage) более 95%, а величина E (E-value), отображающая достоверность выравнивания равнялась 0.0.

2.4 Филогенетический анализ

Для определения положения изучаемых штаммов на филогенетическом древе рода *Talaromyces* в анализ были включены последовательности ДНК из NCBI Genbank (референсные последовательности). Для каждого исследованного вида *Talaromyces*, из базы данных GenBank отобрано по 3 и более референсных последовательностей ДНК (в том числе типовые) относящиеся к тому же виду, если такое количество было доступно. Выбор внешней группы и последовательностей для определения положения изучаемых видов в таксономической системе, главным образом основывался на анализе работ по исследованию филогении семейства Trichosomaceae (Houbraken, Samson, 2011) и различных ревизиях рода *Talaromyces*

(Yilmaz et al., 2014; Tsang et al., 2018; Sun et al., 2020), поэтому, *Trichosoma paradoxa* (штаммы CBS 247.57 и CBS 103.73) использованы в качестве внешней группы.

Наборы данных из сгенерированных в этой работе и референсных последовательностей объединены в один, а после выравнены при помощи алгоритма MAFFT на онлайн сервере (Kato et al., 2019) с использованием автоматических настроек. Полученное множественное выравнивание вручную отредактировано в программе MEGA11 (Tamura et al., 2021), и повторно выравнено в MAFFT. Для анализа полученной матрицы использовали метод байесовской статистики (bayesian inference, BI) в программе MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al., 2012). Наиболее подходящая модель нуклеотидных замен для анализа была выбрана на основе байесовского информационного критерия (BIC), рассчитанного в программе ModerFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017), встроенного в пакет IQ-Tree (Nguyen et al., 2015). Полученные деревья визуализированы в программе Figtree v. 1.4.3 и отредактированы при помощи графического редактора Adobe Illustrator CC 2017.

Глава 3. Результаты и обсуждение

Было проанализировано 176 штаммов: 148 из Вьетнама, 28 из России. Для 165 штаммов получены ДНК-штрихкоды по участку бета-тубулина (BenA). Для 20 штаммов дополнительно получены последовательности ДНК по локусам RPB2 и ITS, однако эти последовательности в дальнейшем не были использованы в работе, так как участок ITS не имел высокой разрешающей способности для разделения видов *Talaromyces*, а участок RPB2, показавший хорошую разрешающую способность, имеет проблемы при амплификации из-за недостаточной специфичности праймеров. Количество штаммов, для которых получены ДНК-штрихкоды по участку BenA и их видовая принадлежность приведены в таблице 2. Для оставшихся 11 штаммов, имеющих однозначные фенотипические особенности, верификация проведена на основе морфологических признаков.

Среди проанализированных штаммов было выявлено 47 видов (46 видов *Talaromyces* и 1 вид *Ascospirella lutea* (\equiv *Talaromyces luteus*). Для 23 штаммов *Talaromyces*, принадлежащих к 15 кладам не удалось установить видовую принадлежность (13 из Вьетнама и 2 из России). До верификации, на основе морфологических признаков было выявлено 23 вида, и для 9 видовая принадлежность не была установлена.

Из 108 штаммов (61% от всех изученных штаммов), по морфологическим признакам отнесенным к 12 видам: *Talaromyces erythromellis* (\equiv *Penicillium erythromellis*), *Talaromyces aculeatus* (\equiv *Penicillium aculeatum*), *Talaromyces funiculosus* (\equiv *Penicillium funiculosum*), *Talaromyces loliensis* (\equiv *Penicillium loliense*), *Talaromyces primulinus* (\equiv *Penicillium primulinum*), *Talaromyces ruber* (\equiv *Penicillium rubrum*), *Talaromyces variabilis*, *Talaromyces solicola*, *Talaromyces flavus*, *Talaromyces dendriticus*, *Talaromyces minioluteus*, *Penicillium tardum*, в результате молекулярной верификации было выявлено 33 вида. Таким образом произошло существенное изменение видового состава коллекции.

Таблица 2. Выявленные виды, количество штаммов и принадлежность к секции рода *Talaromyces* по результатам молекулярной верификации.

№	Вид	Количество штаммов (в т.ч. из России / Вьетнама)	Секция
1	<i>Talaromyces albobiverticillius</i> (H.M. Hsieh, Y.M. Ju & S.Y. Hsieh) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	20 (0 / 20)	Trachyspermi
2	<i>Talaromyces apiculatus</i> Samson, N. Yilmaz & Frisvad	19 (1 / 18)	Talaromyces
3	<i>Talaromyces thailandensis</i> Manoch, Dethoup & N. Yilmaz	11 (0 / 11)	Talaromyces
4	<i>Talaromyces stollii</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Samson	10 (5 / 5)	Talaromyces
5	<i>Talaromyces siamensis</i> Samson, N. Yilmaz & Frisvad	10 (0 / 10)	Talaromyces
6	<i>Talaromyces amestolkiae</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Samson	9 (1 / 8)	Talaromyces
7	<i>Talaromyces verruculosus</i> (Peyronel) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	8 (3 / 5)	Talaromyces
8	<i>Talaromyces muroii</i> Yaguchi, Someya & Udagawa	6 (2 / 4)	Talaromyces
9	<i>Talaromyces wortmannii</i> (Klöcker) C.R. Benj.	6 (0 / 6)	Islandici
10	<i>Talaromyces sparsus</i> L. Wang	4 (0 / 4)	Talaromyces
11	<i>Talaromyces aureolinus</i> L. Wang	4 (0 / 4)	Talaromyces
12	<i>Talaromyces pinophilus</i> (Hedgec.) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	4 (1 / 3)	Talaromyces
13	<i>Talaromyces annesophieae</i> Houbraken	3 (0 / 3)	Talaromyces
14	<i>Talaromyces purpureogenus</i> (Stoll) Samson, N. Yilmaz, Houbraken, Spierenb., Seifert, Peterson, Varga & Frisvad	3 (0 / 3)	Talaromyces
15	<i>Talaromyces trachyspermus</i> (Shear) Stolk & Samson	3 (0 / 3)	Trachyspermi
16	<i>Talaromyces amazonensis</i> N. Yilmaz, López-Quint., Vasco-Pal., Frisvad & Houbraken	2 (0 / 2)	Talaromyces
17	<i>Talaromyces atroroseus</i> N. Yilmaz, Frisvad, Houbraken & Samson	2 (1 / 1)	Trachyspermi
18	<i>Talaromyces rugulosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	2 (2 / 0)	Islandici
19	<i>Talaromyces stipitatus</i> (Thom ex C.W. Emmons) C.R. Benj.	2 (2 / 0)	Talaromyces

20	<i>Talaromyces cecidicola</i> (Seifert, Hoekstra & Frisvad) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	2 (0 / 2)	Purpurei
21	<i>Talaromyces pratensis</i> Jurjević & S.W. Peterson	1 (1 / 0)	Talaromyces
22	<i>Talaromyces kendrickii</i> Visagie, N. Yilmaz, Seifert & Frisvad	1 (1 / 0)	Talaromyces
23	<i>Talaromyces stellenboschensis</i> Visagie & K. Jacobs	1 (1 / 0)	Talaromyces
24	<i>Ascospirella lutea</i> (Zukal) Houbraken, Frisvad & Samson [= <i>Talaromyces luteus</i>]	1 (1 / 0)	
25	<i>Talaromyces allahabadensis</i> (B.S. Mehrotra & D. Kumar) Samson, N. Yilmaz & Frisvad	1 (0 / 1)	Islandici
26	<i>Talaromyces brunneus</i> (Udagawa) Samson, N. Yilmaz & Frisvad	1 (0 / 1)	Islandici
27	<i>Talaromyces dimorphus</i> X.Z. Jiang & L. Wang	1 (0 / 1)	Talaromyces
28	<i>Talaromyces diversus</i> (Raper & Fennell) Samson, N. Yilmaz & Frisvad	1 (0 / 1)	Trachyspermi
29	<i>Talaromyces haitouensis</i> L. Wang	1 (0 / 1)	Talaromyces
30	<i>Talaromyces islandicus</i> (Sopp) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	1 (0 / 1)	Islandici
31	<i>Talaromyces louisianensis</i> Jurjević & S.W. Peterson	1 (1 / 0)	Talaromyces
32	<i>Talaromyces minnesotensis</i> Guevara-Suarez, Cano & Dania García	1 (1 / 0)	Trachyspermi
33	<i>Talaromyces</i> sp. 1 alb_hei	1 (0 / 1)	Trachyspermi
34	<i>Talaromyces</i> sp. 2 Pa_Ta	1 (0 / 1)	Purpurei
35	<i>Talaromyces</i> sp. 3 vo_KUC21408	1 (1 / 0)	Helici
36	<i>Talaromyces</i> sp. 4 Tm_KJ-2012a	2 (0 / 2)	Talaromyces
37	<i>Talaromyces</i> sp. 5 Tal_Ter_The	1 (0 / 1)	Trachyspermi
38	<i>Talaromyces</i> sp. 6 Tpan	3 (0 / 3)	Talaromyces
39	<i>Talaromyces</i> sp. 7 Tmu_Tbr	1 (0 / 1)	Islandici
40	<i>Talaromyces</i> sp. 8 MLWB35_Tman_Tban	1 (0 / 1)	Talaromyces
41	<i>Talaromyces</i> sp. 9 Tru_Tac_CV1742	1 (1 / 0)	Islandici
42	<i>Talaromyces</i> sp. 10 KJ-2012e	2 (0 / 2)	Talaromyces
43	<i>Talaromyces</i> sp. 11 Tva_Trु	2 (0 / 2)	Секция неизвестна
44	<i>Talaromyces</i> sp. 12 Mur	1 (0 / 1)	Talaromyces
45	<i>Talaromyces</i> sp. 13 Tman	2 (0 / 2)	Talaromyces
46	<i>Talaromyces</i> sp. 14 Man	2 (0 / 2)	Talaromyces
47	<i>Talaromyces</i> sp. 15	2 (0 / 2)	Talaromyces
Общее число штаммов		165	

3.1 Характеристика морфологических признаков

Для фиксации морфологических признаков использовали подход, предложенный для рода *Penicillium* (Visagie et al., 2014). Для каждого выявленного вида рода *Talaromyces* указаны номера штаммов, принадлежащие этому виду, секция и синонимы. Дана краткая морфологическая характеристика, фотографии, проведено сравнение с литературными данными. Ниже приведен образец описания на примере *Talaromyces cecidicola* (рисунки 2 и 3).

1. *Talaromyces cecidicola* (Seifert, Hoekstra & Frisvad) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert 2011

≡ *Penicillium cecidicola* Seifert, Hoekstra & Frisvad

Секция *Purpurei*.

Морфологические признаки и происхождение штаммов:

№	Коллекционный номер	Конидии			Пигмент		Рост СУА	Страна происхождения
		Форма	Орнаментация	Размеры, мкм	Цвет	Характер окрашивания		
1	952	Эллипс.	Гладкие	2,5-3 x 1,5-2	Красный Яркий	Диффундирующий	Да	Вьетнам
2	1756	Эллипс.	Гладкие	2,5-3 x 1,5-2	Красный Яркий	Диффундирующий	Да	Вьетнам

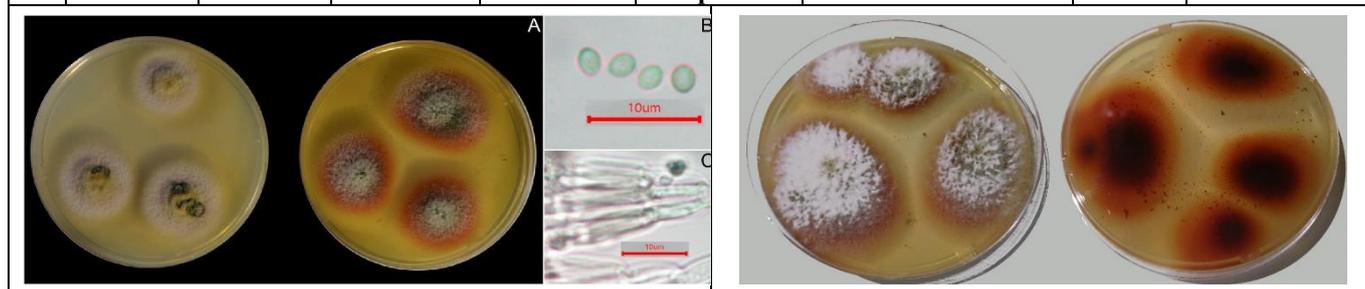


Рисунок 2. *Talaromyces cecidicola* штамм 952. А. Слева СУА, справа МЕА. В. Конидии. С. Фиалиды. **Рисунок 3.** *Talaromyces cecidicola* штамм 1756, среда МЕА. Заметны длинные синнемы.

Talaromyces cecidicola впервые описан (как *Penicillium cecidicola* в 2004 году) из ходов ос, внутри галлов дуба из США (Seifert et al., 2004). *T. cecidicola* образует бархатистые темно-зеленые колонии с синнемами и красным реверсом. Сходен с *T. colescens*, однако *T. colescens* растет быстрее, чем *T. cecidicola* на МЕА при 30°C. Конидии гладкие, от эллипсоидных с заостренным концом до веретенообразных, 2,5–3.5(–5.5) × 1,5–3 мкм (Yilmaz et al., 2014).

3.2 Молекулярная верификация

Для молекулярной верификации штаммов использован участок гена бета-тубулина (*BenA*) с праймерами *Vt2a/Vt2b*. Протестированные также участки ITS и *RPB2* было решено не использовать для дальнейшей работы. Участок *BenA* показал высокую разрешающую способность (как по нашим, так и по литературным данным) при разделении видов *Talaromyces*. После секвенирования получено 165

последовательностей ДНК по участку ВепА со средней длиной фрагмента в 440 н.п. на основе которых затем был проведен филогенетический анализ.

Каждый коллекционный штамм уже был идентифицирован по морфологическим признакам, перед тем как помещен в коллекцию. Однако из-за значительных перестановок в системе грибов и увеличения объема рода *Talaromyces*, была необходима верификация штаммов с использованием молекулярных методов. Всего в результате верификации выявлено 46 видов из рода *Talaromyces* и вид *Ascospirella lutea* (\equiv *Talaromyces luteus*). Для 23 штаммов не удалось установить видовую принадлежность, по результатам филогенетического анализа они образовали 15 клады. Таким образом, всего выявлено 47 видов, они указаны в таблице 3.

Таблица 3. Виды, выявленные в результате работы.

Виды из Вьетнама				Виды из России	
1	<i>Talaromyces albobiverticillius</i>	16	<i>Talaromyces pinophilus</i>	1	<i>Ascospirella lutea</i> *
2	<i>Talaromyces allahabadensis</i>	17	<i>Talaromyces purpureogenus</i>	2	<i>Talaromyces amestolkiae</i>
3	<i>Talaromyces amazonensis</i>	18	<i>Talaromyces siamensis</i>	3	<i>Talaromyces apiculatus</i>
4	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	19	<i>Talaromyces sparsus</i>	4	<i>Talaromyces atroroseus</i>
5	<i>Talaromyces annesophieae</i>	20	<i>Talaromyces stollii</i>	5	<i>Talaromyces kendrickii</i>
6	<i>Talaromyces apiculatus</i>	21	<i>Talaromyces thailandensis</i>	6	<i>Talaromyces louisianensis</i>
7	<i>Talaromyces atroroseus</i>	22	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	7	<i>Talaromyces minnesotensis</i>
8	<i>Talaromyces aureolinus</i>	23	<i>Talaromyces verruculosus</i>	8	<i>Talaromyces muroii</i>
9	<i>Talaromyces brunneus</i>	24	<i>Talaromyces wortmannii</i>	9	<i>Talaromyces pinophilus</i>
10	<i>Talaromyces cecidicola</i>			10	<i>Talaromyces rugulosus</i>
11	<i>Talaromyces dimorphus</i>			11	<i>Talaromyces stellenboschensis</i>
12	<i>Talaromyces diversus</i>			12	<i>Talaromyces stipitatus</i>
13	<i>Talaromyces haitouensis</i>			13	<i>Talaromyces stollii</i>
14	<i>Talaromyces islandicus</i>			14	<i>Talaromyces verruculosus</i>
15	<i>Talaromyces muroii</i>			15	<i>Talaromyces pratensis</i>

Видовая принадлежность не установлена			Видовая принадлежность не установлена		
1	<i>Talaromyces</i> sp. 1 alb_hei	8	<i>Talaromyces</i> sp. 10 KJ-2012e	1	<i>Talaromyces</i> sp. 3 vo_KUC21408
2	<i>Talaromyces</i> sp. 2 Pa_Ta	9	<i>Talaromyces</i> sp. 11 Tva_Trु	2	<i>Talaromyces</i> sp. 9 Tru_Tac_CV1742
3	<i>Talaromyces</i> sp. 4 Tm_KJ-2012a	10	<i>Talaromyces</i> sp. 12 Mur		
4	<i>Talaromyces</i> sp. 5 Tal_Ter_The	11	<i>Talaromyces</i> sp. 13 Tman		
5	<i>Talaromyces</i> sp. 6 Tpan	12	<i>Talaromyces</i> sp. 14 Man		
6	<i>Talaromyces</i> sp. 7 Tmu_Tbr	13	<i>Talaromyces</i> sp. 15		
7	<i>Talaromyces</i> sp. 8 MLWB35_Tman_Tban				

* *Ascospirella lutea* (\equiv *Talaromyces luteus*)

Во Вьетнаме выявлено 24 вида *Talaromyces*, для которых удалось установить видовую принадлежность и 13 видов для которых видовая принадлежность не установлена. Из 24 видов, 19 для Вьетнама были зарегистрированы впервые. Ранее для Вьетнама, по литературным данным, было известно 20 видов, таким образом общее количество известных сегодня для Вьетнама видов *Talaromyces* составляет 39. Для 13 видов *Talaromyces* не удалось установить видовую принадлежность, они могут являться потенциально новыми видами.

В России выявлено 15 видов, из них 14 видов принадлежат к роду *Talaromyces*, оставшийся вид – *Ascospirella lutea* (\equiv *Talaromyces luteus*) был приведен в соответствие к современной системе. Из 15 видов, 13 для России были зарегистрированы впервые. Ранее для России, по литературным данным, было известно 25 видов, таким образом общее количество известных сегодня для России видов *Talaromyces* составляет 38. Для 2 видов *Talaromyces* не удалось установить видовую принадлежность, они могут являться потенциально новыми видами.

Общими для Вьетнама и России оказались 7 видов: *T. amestolkiae*, *T. apiculatus*, *T. atroseus*, *T. muroii*, *T. pinophilus*, *T. stollii*, *T. verruculosus*, вероятно это виды-космополиты, широко распространенные в различных регионах.

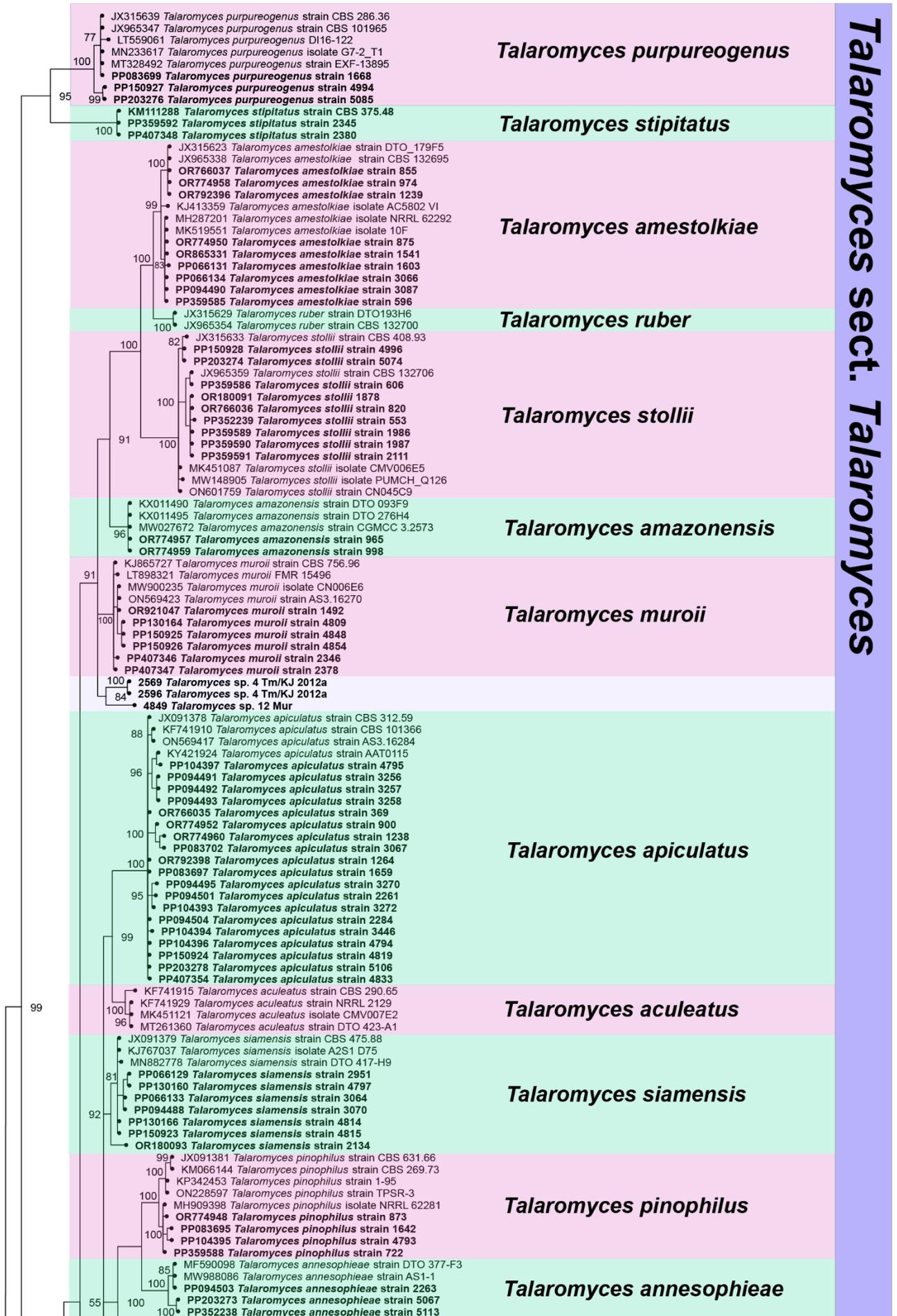
По результатам филогенетического анализа изученные штаммы принадлежат 6-ти секциям рода *Talaromyces*. Наибольшая часть выявленных видов (70%) относится к самой крупной секции рода – *Talaromyces* sect. *Talaromyces*, а остальные виды к секциям *Islandici*, *Trachyspermi*, *Purpurei*, *Helici*. Не были выявлены виды из секций *Bacillispori*, *Subinflati*, *Tenuis*. Также было выявлено 2 штамма, относящихся к 1 виду, которые вероятно образуют ранее не описанную секцию рода *Talaromyces*. Внутриродовое положение всех изученных штаммов указано в таблице 4.

Таблица 4. Принадлежность к секциям проанализированных штаммов *Talaromyces* на основании молекулярных данных.

Секция <i>Talaromyces</i>	Кол-во штаммов	Кол-во видов	Штаммы с не выявленной видовой принадлежностью	Виды <i>Talaromyces</i> , которые не удалось идентифицировать
Talaromyces	116	28	15	8
Trachyspermi	29	7	2	2
Islandici	13	7	2	2
Purpurei	3	2	1	1
Helici	1	1	1	1
Секция неизвестна	2	1	2	1
Сумма	164*	46	23	15

*Штамм №654 – *Ascospirella lutea* (\equiv *Talaromyces luteus*) в этой таблице не указан

Штамм *Talaromyces* из института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов (IBPPM RAS 664) Саратовского научного центра Российской академии наук был идентифицирован как *T. pratensis*. Данный штамм был изучен на возможность использования полиэтилентерефталата (ПЭТ) в качестве единственного источника углерода и энергии (Позднякова et al., 2022). Часть штаммов, для которых ранее за время работы не удалось выявить видовую принадлежность, были верифицированы позже как виды *Talaromyces aureolinus* (штаммы 357, 2545, 5055, 4810) и *Talaromyces haitouensis* (штамм 3074), которые были описаны в 2021 году. По результатам работы было реконструировано два филогенетических древа. Одно для *Talaromyces* sect. *Talaromyces* (рисунок 4). Второе для видов *Talaromyces* из других секций (рисунок 5).



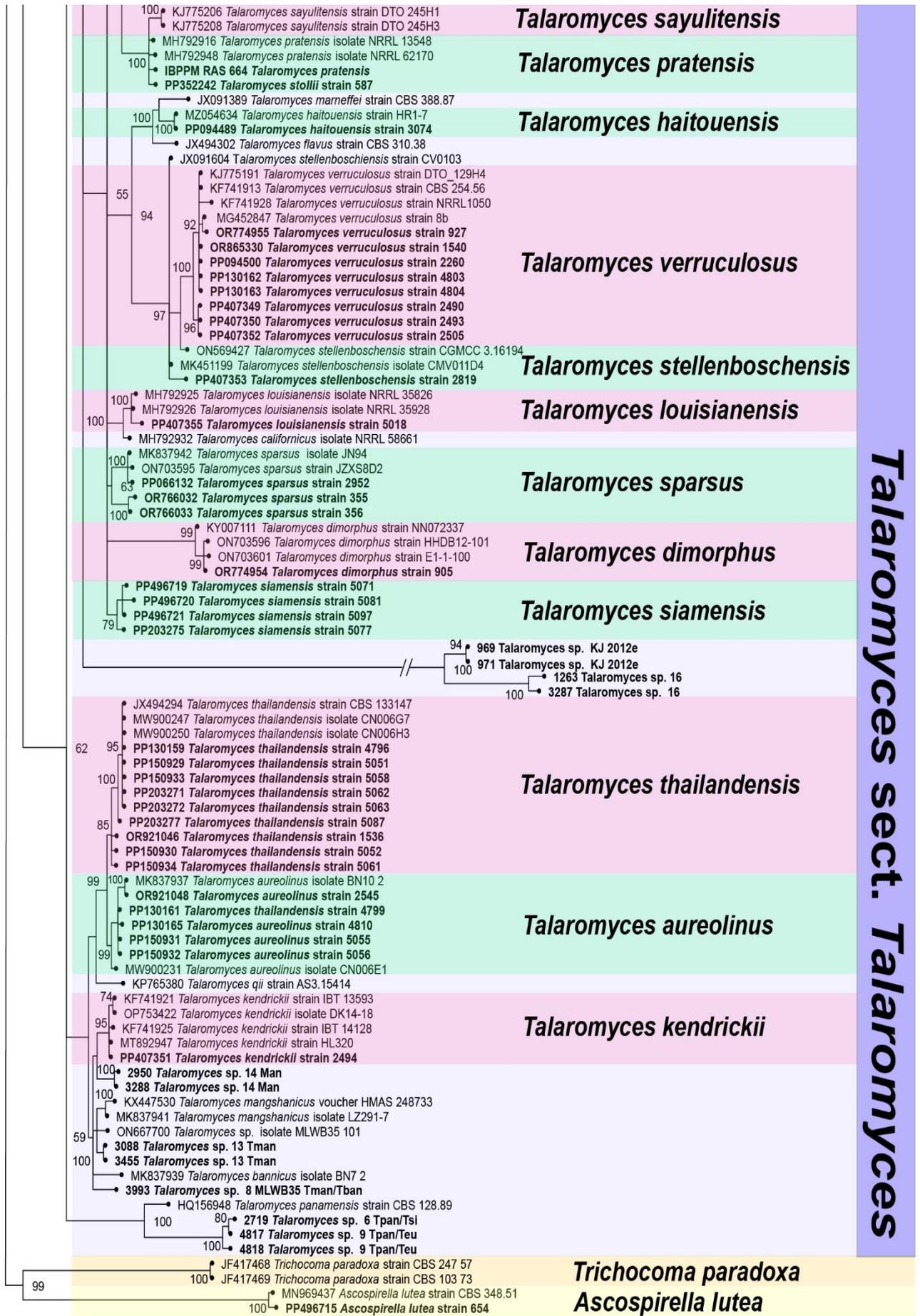
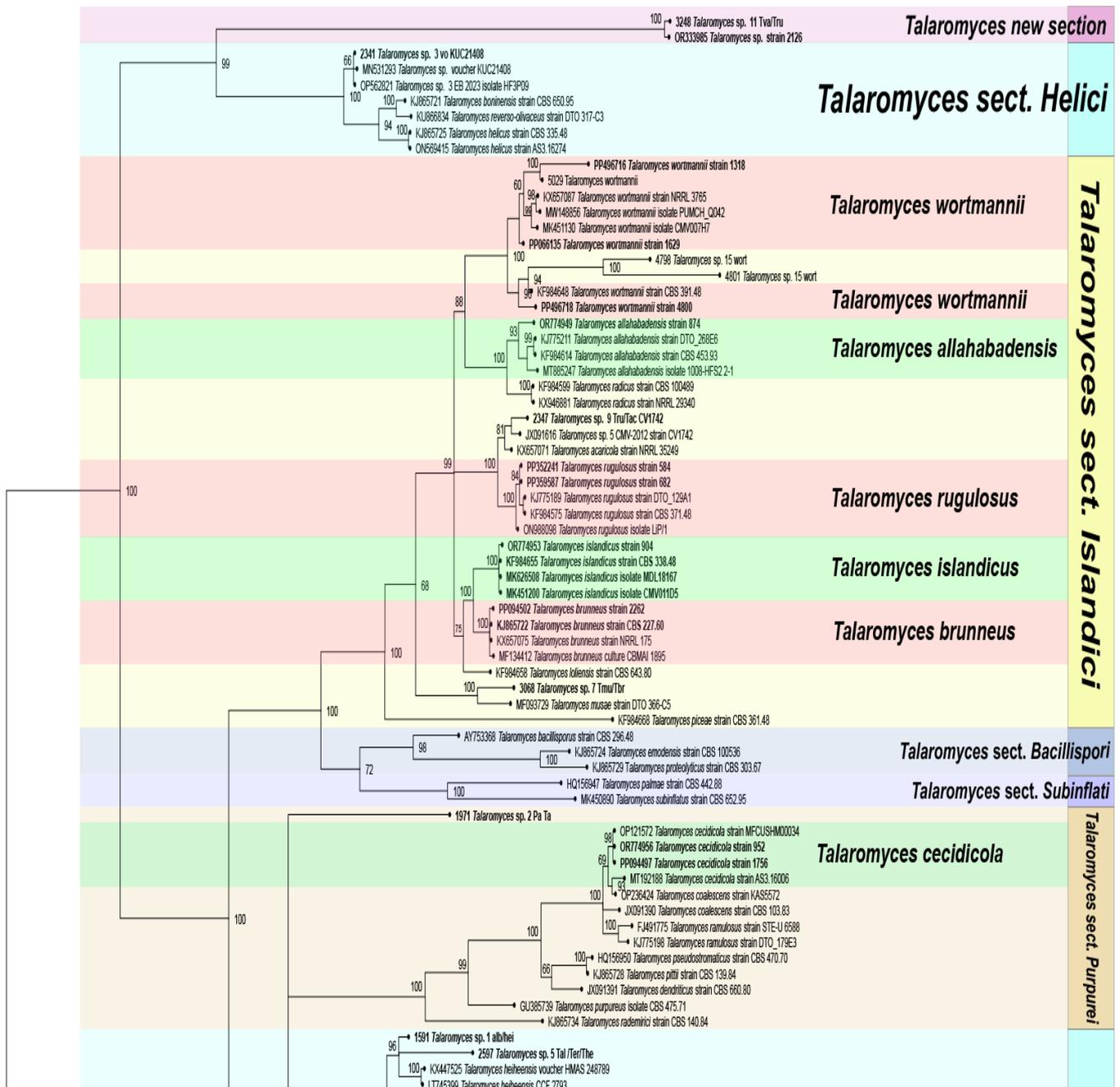


Рисунок 4. Филогенетическое древо, построенное по участку гена бета-тубулина (BenA) на основе 199 последовательностей ДНК (116 оригинальных и 83 референсных) для определения родства внутри для *Talaromyces* sect. *Talaromyces* (длина выравнивания - 588 символов, включая пробелы). Для анализа полученной матрицы использовали метод байесовской статистики (bayesian inference, BI) в программе MrBayes 3.2.6. Значения поддержки Байесовской апостериорной вероятности (BPP) указаны рядом с узлами, ветвь считали значимой при (BPP > 0,95), линия указывает количество замен на сайт. Модель нуклеотидных замен (GTR+I+G) была выбрана на основе байесовского информационного критерия (BIC), рассчитанного в программе ModelFinder, встроенного в пакет IQ-Tree. Последовательности, полученные в ходе этой работы выделены жирным шрифтом. Древо укоренено на *Trichosoma paradoxa* (штаммы CBS 247.87 и CBS 103.73) и *Ascospirella lutea* (штаммы CBS 348.51 и 654).



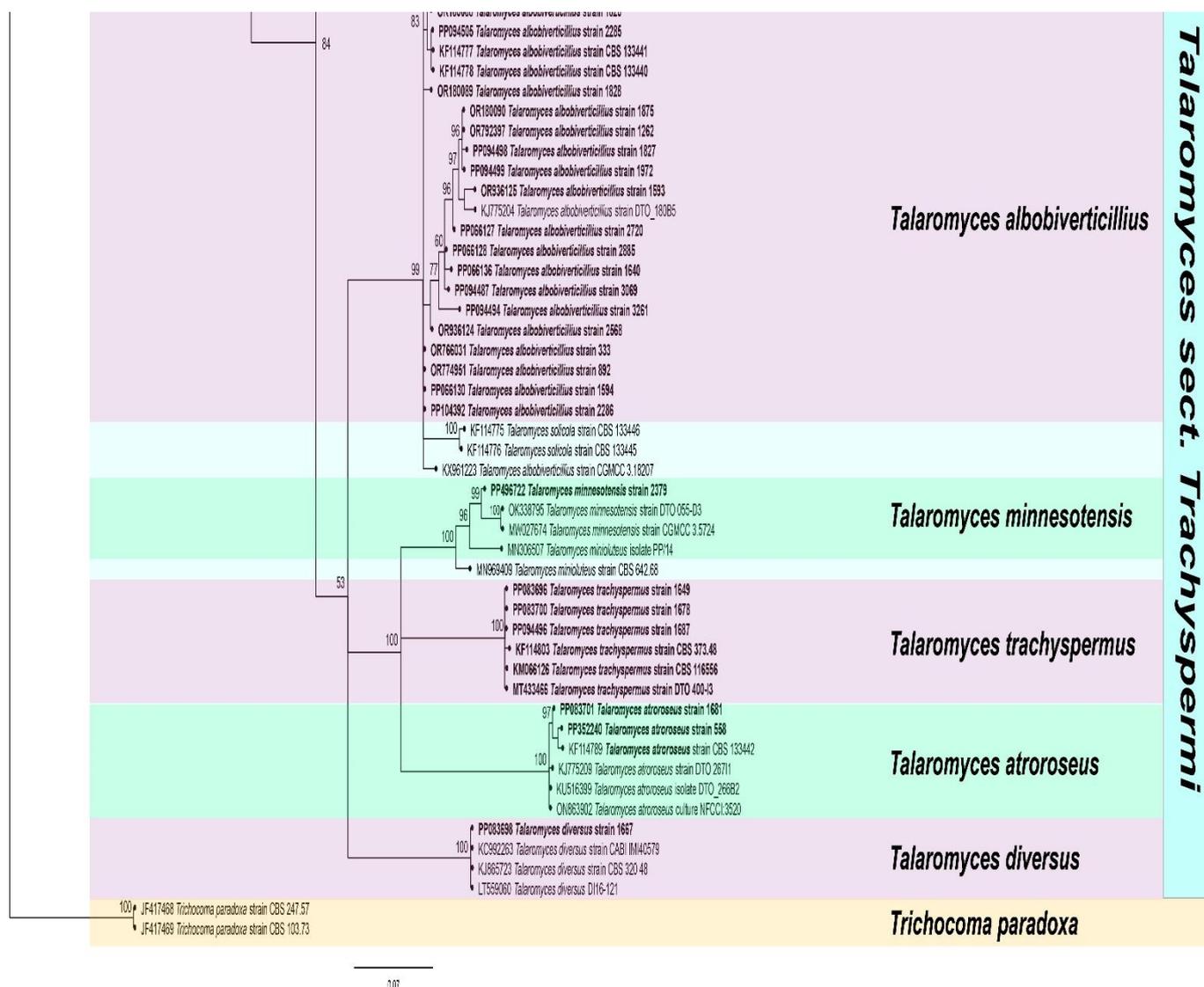


Рисунок 5. Филогенетическое древо, построенное по участку гена бета-тубулина (BenA) на основе 115 последовательностей ДНК (51 оригинальных и 64 референсных) для определения родства внутри *Talaromyces* из секций *Trachyspermi*, *Islandici*, *Purpurei*, *Helici*, секция неизвестна. (Длина выравнивания - 609 символов, включая пробелы). Для анализа полученной матрицы использовали метод байесовской статистики (bayesian inference, BI) в программе MrBayes 3.2.6. Значения поддержки Байесовской апостериорной вероятности (BPP) указаны рядом с узлами, ветвь считали значимой при (BPP > 0,95), линия указывает количество замен на сайт. Модель нуклеотидных замен (GTR+I+G) была выбрана на основе байесовского информационного критерия (BIC), рассчитанного в программе ModelFinder, встроенного в пакет IQ-Tree. Последовательности, полученные в ходе этой работы выделены жирным шрифтом. Древо укоренено на *Trichocoma paradoxa* (штаммы CBS 247.87 и CBS 103.73).

3.3 Встречаемость и субстратная приуроченность видов рода *Talaromyces* в ООПТ Вьетнама

Анализ проведен на основе многолетних данных о частоте встречаемости культивируемых почвенных микромицетов на различных территориях Вьетнама, которые включали данные в том числе о видах из рода *Talaromyces*. Было проведено сравнение видовых списков с разных типов субстратов: почва, растительные остатки (опад) и т.н. «воздушная почва» из корзинок эпифитных растений в различных регионах Вьетнама. Схематическое изображение наличия общих видов между различными субстрата и регионами представлено на диаграммах Венна (рисунок 6).

Так, нельзя говорить о приуроченности конкретных видов строго к определенному типу субстрата. Всего 2 вида - *Talaromyces cecidicola* и *T. brunneus* были встречены исключительно в опаде, при этом они входили в группу случайных видов (с частотой встречаемости 10%), только в почве – тоже два вида: *T. dimorphus* (из группы доминантов, с частотой 60%) и *T. annesophieae* (редкий вид, с частотой 20%), только в воздушной почве – *T. haitouensis* (случайный вид, с частотой 10%).

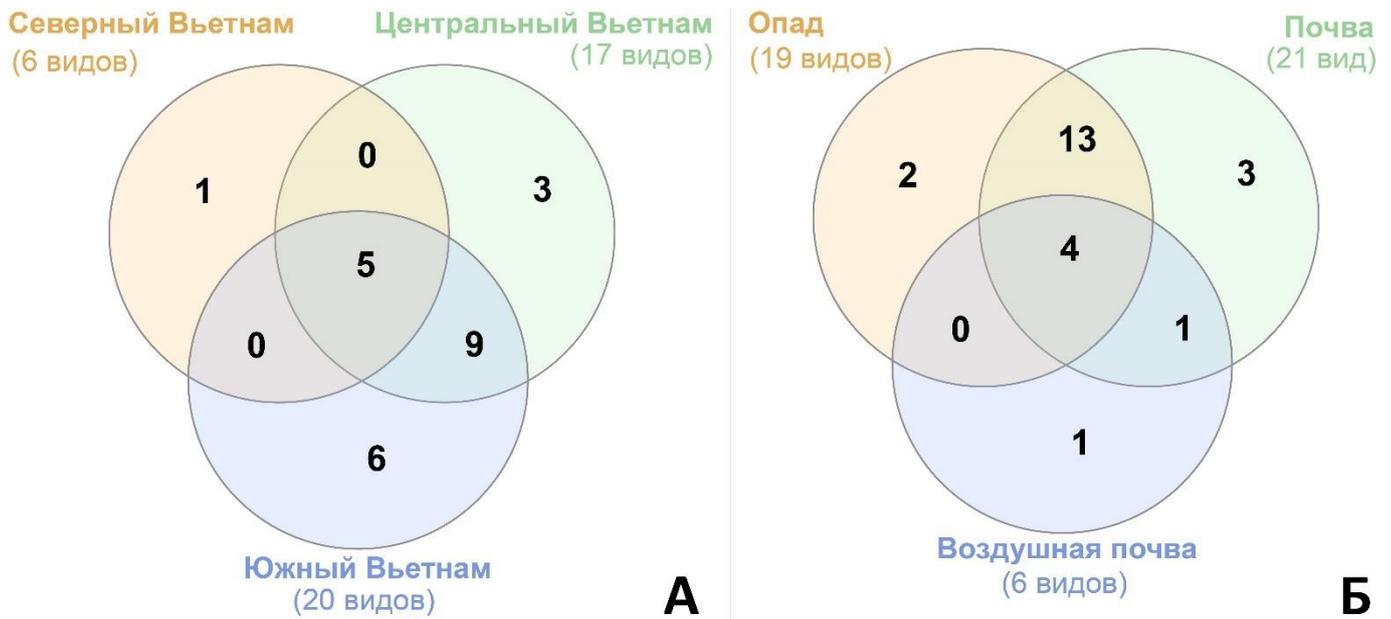


Рисунок 6. Диаграммы Венна: **А.** Иллюстрирующая приуроченность видов *Talaromyces* к различным субстратам. **Б.** Иллюстрирующая приуроченность видов *Talaromyces* к регионам Вьетнама.

Подавляющее большинство видов встречается и в почве, и на растительных остатках, при этом на всех трёх типах субстратов были встречены 4 вида: *T. albobiverticillius*, *T. apiculatus*, *T. amestolkiae*, *T. siamensis*. При рассмотрении региона сбора материала (Центральный, Северный и Южный) также не удалось выявить очевидных закономерностей распределения видов. Так, 5 видов: *T. albobiverticillius*, *T. apiculatus*, *T. amestolkiae*, *T. siamensis*, *T. stollii*, встречаются во всех трёх регионах Вьетнама.

Заключение

В результате анализа созданной базы данных показано, что, на сегодняшний момент признаются 205 видов рода *Talaromyces*, большинство из которых зарегистрировано из регионов с субтропическим и тропическим климатом. Значительное число видов *Talaromyces* связано с почвой и ассоциированными с ней субстратами.

В ходе работы было изучено 176 штаммов из коллекции кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ (в том числе 45 штаммов, выделенных автором), из которых 148 штаммов (84%) были получены из Вьетнама и 28 штаммов (16%) из России.

В ходе молекулярно-генетических исследований получены последовательности ДНК по участкам ITS, RPB2 (по 20 последовательностей) и последовательности по участку BenA. Последовательности ДНК по участку гена бета-тубулина (BenA) с использованием праймеров Vt2a/Vt2b. были получены для 165 штаммов. Для рутинной идентификации оптимально использовать участок бета-тубулина (BenA), так как он имеет максимальную разрешающую способность на уровне рода и относительно легок для амплификации.

Показано, что при применении методов молекулярной идентификации выявляемое видовое богатство *Talaromyces* выше, чем при использовании только морфологических признаков. На основе морфологических признаков предварительно было идентифицировано 23 вида и выявлено 9 штаммов с неясной видовой принадлежностью. По результатам молекулярной верификации этих штаммов было выявлено 47 видов рода *Talaromyces*, а один штамм был приведен в соответствие к современной системе как *Ascospirella lutea* (\equiv *Talaromyces luteus*). Во Вьетнаме выявлено 37 видов, в России — 17 видов.

Увеличение числа видов произошло в первую очередь за счет разграничения видов-двойников со сходной морфологией, например, 8 штаммов, ранее идентифицированных как *Talaromyces verruculosus* были разделены на 5 видов: *T. kendrickii*, *T. pinophilus*, *T. verruculosus*, *T. apiculatus* и *T. louisianensis*, это стало возможным за счет значительного увеличения объема рода *Talaromyces* и обширного количества филогенетических данных, появившихся в последние годы. Два вида, которые первоначально не удалось идентифицировать до вида, были позднее отнесены к видам *T. aureolinus* и *T. haitouensis*, описанным другими исследователями в 2021 и 2022 годах, соответственно.

Для 107 штаммов, помещенных в коллекцию под названиями *Talaromyces erythromellis*, *T. aculeatus*, *T. funiculosus*, *T. loliensis*, *T. primulinus*, *T. ruber*, *T. variabilis*, *T. solicola*, *T. flavus*, *T. dendriticus*, *T. minioluteus* (всего — 11 видов), результаты предварительного определения по морфологическим признакам были частично или полностью пересмотрены.

Некоторые виды, например *T. purpureogenus* или *T. funiculosus* считавшиеся очень широко распространёнными и обыкновенными, в действительности таковыми не являются. Из всех проанализированных штаммов, ранее отнесенных к *Talaromyces purpureogenus*, к *T. purpureogenus sensu stricto* отнесен только один штамм, а остальные были переопределены. Среди штаммов, определенных как *T. funiculosus*,

этого вида не было выявлено вовсе, и все они переопределены как морфологически сходные виды: *Talaromyces stollii*, *T. sayulitensis*, *T. amestolkiae*, *T. pinophilus*, *T. cecidicola*.

Из Российской части коллекции проанализировано 28 штаммов, выявлено 15 видов, из них 13 являются новыми для России. Ранее для России было зарегистрировано 25 видов, наши данные увеличили известное видовое богатство *Talaromyces* в России — на 51%. Наиболее частыми в Российской части коллекции были *T. stollii* и *T. verruculosus*. В России был отмечен редкий вид — *T. kendrickii*, до этого известный только из места описания в Канаде (Visagie et al., 2015).

В результате анализа Вьетнамской части коллекции, а также данных масштабных исследований разнообразия и распространения почвенных микромицетов на особо охраняемых природных территориях по всему Вьетнаму с учетом частоты встречаемости и субстратной приуроченности, показано, что *T. albobiverticillius*, *T. apiculatus*, *T. amestolkiae* наиболее распространены на исследованных территориях, на всех типах субстратов (почва, опад, воздушный опад) в трёх регионах (Северный, Центральный, Южный). По всей видимости они являются типичными и широко распространёнными. Виды *T. annesophieae*, *T. brunneus*, *T. haitouensis*, *T. cecidicola* имеют наименьшую частоту встречаемости на исследованных площадках, при этом они приурочены к определённым типам субстратов и встречены только в одном из регионов Вьетнама, вероятно они являются редкими.

Лишь 7 видов: *Talaromyces amestolkiae*, *T. apiculatus*, *T. atroroseus*, *T. muroii*, *T. pinophilus*, *T. stollii* и *T. verruculosus* были выявлены и в России, и во Вьетнаме. Можно предположить, что это виды космополиты с широким распространением. Еще 10 и 30 видов, соответственно, были выявлены только в одной из стран.

Для 15 видов из рода *Talaromyces*, представленных 23 штаммами, не удалось установить видовую принадлежность, вероятно они являются ранее не описанными видами. Во Вьетнаме доля неописанных видов достигает 35% (13 из 37 видов), что демонстрирует слабую изученность этого региона и её высокий потенциал для выявления новых видов *Talaromyces*. Из 17 видов (28 штаммов), выявленных в России, установить видовую принадлежность не удалось для 2 видов *Talaromyces*.

По результатам филогенетического анализа изученные штаммы принадлежат шести секциям рода *Talaromyces*. Наибольшая часть штаммов (83%) принадлежит к *Talaromyces* sect. *Talaromyces* (116 штаммов), и меньшая часть — секциям *Trachyspermi* (29 штаммов), *Islandici* (13 штаммов), *Purpurei* (3 штамма), *Helici* (1 штамм). Не были выявлены штаммы из секций *Bacillispori*, *Subinflati*, *Tenues*. Также было выявлено два штамма *Talaromyces* sp. 11 Tva_Tru, которые не вошли в состав ни одной из известных секций рода *Talaromyces* и вероятно они образуют новую секцию.

В результате работы продемонстрировано, что с использованием только морфологического подхода затруднительно идентифицировать виды рода *Talaromyces*, а выявление видов в комплексах или разграничение морфологически близких видов возможно только при сочетании нескольких подходов. Для облегчения процедуры комплексной идентификации, на основе метода, предложенного для характеристики видов рода *Penicillium* (Visagie et al., 2014), была опробована

упрощенная методика для рода *Talaromyces*, включающая в себя инкубацию на двух стандартизованных питательных средах (СYA и MEA) при 25°C, для характеристики морфолого-культуральных признаков, а также использование последовательности участка гена бета-тубулина (BenA), амплифицированного с праймерами Vt2a/Vt2b, для молекулярной диагностики. При этом, исследованный нами универсальный для грибов локус ITS не дает высокой разрешающей способности при разделении видов *Talaromyces*, а локус RPB2 имеющий высокую разрешающую способность, имеет проблемы при амплификации. Необходимо помнить, что часть важных для идентификации признаков (появление плодовых тел, склероциев, пожелтение мицелия) появляется лишь спустя 2–3 недели инкубации, поэтому важно сохранять культуры и фиксировать признаки регулярно в течении трех недель.

Выводы

1. В результате анализа созданной базы данных показано, что, на данный момент признаются 205 видов рода *Talaromyces*, большинство из которых зарегистрировано из регионов с субтропическим и тропическим климатом. Значительное число видов *Talaromyces* связано с почвой и ассоциированными с ней субстратами.
2. В результате верификации 176 штаммов рода *Talaromyces*, отнесенных ранее по морфолого-культуральным признакам к 23 видам, выявлено 32 вида. Увеличение числа видов произошло за счет разграничения видов-двойников со сходной морфологией. Для 23 штаммов не удалось установить видовую принадлежность. По результатам филогенетического анализа они принадлежат к 15 ранее не описанным видам *Talaromyces*.
3. Из России проанализировано 28 штаммов, выявлено 15 видов, из них 13 являются новыми для России. Ранее для России было зарегистрировано 25 видов, наши данные увеличили известное видовое богатство *Talaromyces* в России — на 51%. Наиболее частыми в Российской части коллекции были *T. stollii* и *T. verruculosus*.
4. Из Вьетнама проанализировано 148 штаммов, отнесенных к 24 видам, из которых 19 были зарегистрированы впервые. Ранее для Вьетнама было известно только 20 видов, и описанное видовое богатство возросло на 95%.
5. В результате масштабных исследований микромицетов заповедных лесов Вьетнама, на основе анализа частоты встречаемости выявленных видов, показано, что *T. albobiverticillius*, *T. apiculatus*, *T. amestolkiae* являются типичными и широко распространёнными видами для Вьетнама, а виды *T. annesophieae*, *T. brunneus*, *T. haitouensis*, *T. cecidicola* — редкими, приуроченными к локальным местообитаниям.
6. Проведенный филогенетический анализ показал, что выявленные виды *Talaromyces* принадлежат 6 секциям: *Talaromyces* (116 штаммов), *Trachyspermi* (29 штаммов), *Islandici* (13 штаммов), *Purpurei* (3 штамма), *Helici* (1 штамм) и 2 штамма (1 вид) образовали кладу, ранее не выявленную для рода *Talaromyces*, которая потенциально может образовать новую секцию рода.

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. **Антонов Е. А., Александрова А. В. и Антонова И. И.** Современная таксономия и подходы к идентификации рода *Talaromyces* (Trichosomaceae, Eurotiales). Микология и фитопатология. 2024. V. 58 (1). P. 3–18. <https://doi.org/10.31857/S0026364824010018> [Scopus, SNIP=0.431, SJR=0.216] 1.67 п. л. (Вклад автора заключался в анализе доступно литературы и написании публикации. Здесь далее приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора).
2. **Антонова И. И., Александрова А. В., Антонов Е. А., Волынкина И.А. и Лукьянов Д.А.** Микроскопические культивируемые грибы предгорных лесов национального парка Бузьямап (Вьетнам). Микология и фитопатология. 2024. V. 58 (3). P. 177–194. <https://doi.org/10.31857/S0026364824030017> [Scopus, SNIP=0.431, SJR=0.216] 1.59 п. л. (Вклад автора заключался в идентификации видов из рода *Talaromyces* с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов).
3. **Позднякова Н. Н., Буров А. М., Антонов Е. А., Александрова А. В. и Турковская О. В.** Исследование способности аскомицетов трансформировать полиэтилентерефталат. Биотехнология. 2022. V. 38 (5). P. 106–115. <https://doi.org/10.56304/S023427582205012X> [Scopus, SNIP=0.309, SJR=0.127] 0.92 п. л. (Вклад автора заключался в идентификации тестируемого штамма из рода *Talaromyces* с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов).
4. **Kalechits V. I., Aleksandrov P. A., Aleksandrova A. V., Antonov E. A., Ilyin V. K., Kovbasyuk I. E., Maslakov O. Yu., Usanova N. A., Khozyasheva E. S. & Shakhov M. N.** The research of aerosol and microscope fungi accumulation dynamics inside the air of a hermetic inhabited facility during the 4-month isolation experiment SIRIUS-19. Aerosol Science and Engineering. 2022. V. 6 (3). P. 306–315. <https://doi.org/10.1007/s41810-022-00146-5> [Scopus, SNIP=0.420, SJR=0.335] 0.94 п. л. (Вклад автора заключался в идентификации микромицетов, в том числе из рода *Talaromyces*, которые также дополнили коллекцию кафедры).