

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

БИБИКОВ НИКИТА МИХАЙЛОВИЧ

**МИКОБИОТА, АССОЦИИРОВАННАЯ С КОРНЕВОЙ
СИСТЕМОЙ, И АНАТОМИЯ МИКОРИЗЫ ОРХИДНЫХ НА
ПРИМЕРЕ ТРОПИЧЕСКИХ И БОРЕАЛЬНЫХ ВИДОВ**

специальность 1.5.18 – микология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Кандидат биологических наук, доцент
Воронина Елена Юрьевна

Москва – 2025

Оглавление

Оглавление.....	2
Введение.....	4
1. Обзор литературы	10
1.1 Орхидная микориза.....	11
1.2 Микобионты орхидной микоризы	13
1.3 Эндифиты орхидных.....	19
1.4 Подтриба <i>Goodyerinae</i>	21
1.5 Процесс колонизации и анатомия орхидной микоризы	22
1.6 Регуляция формирования орхидной микоризы.....	23
1.7 Орхидная микориза в контексте практического применения.....	27
1.8 Подходы к изучению орхидной микоризы	28
2. Материалы и методы	30
2.1 Объекты исследования	30
2.2 Характеристика изучаемых местообитаний	30
2.3 Сбор материала.....	33
2.4 Микроскопия	36
2.4.1 Конфокальная микроскопия.....	36
2.4.2 Световая и флуоресцентная микроскопия	36
2.4.3 Электронная микроскопия	36
2.5 Выделение чистых культур грибов	37
2.6 Идентификация культур грибов	37
2.7 Метагеномный анализ.....	38
2.8 Получение экстрактов культур грибов	39
2.9 Изучение антимикробной активности культур грибов	39
2.10 Анализ патогенности изолятов	40
2.11 Обработка и обсчет данных	40
3. Результаты и обсуждение.....	42
3.1 Микоризный статус изучаемых орхидных	42
3.2 Микобиота корней наземных орхидных города Шэньчжэнь	43
3.3 Корневая микобиота <i>G. repens</i>	48
3.3.1 Общая характеристика ассоциированной микобиоты.....	49
3.3.2 Структура грибных сообществ корней <i>G. repens</i>	51
3.3.3 Сообщество микоризообразователей в корнях <i>G. repens</i>	55
3.3.4 Сообщество грибов-эндифитов в корнях <i>G. repens</i>	68
3.3.5 Выявленные представители класса <i>Archaeorhizomycetes</i>	71

3.3.6 Микобиота корней <i>G. repens</i> , выявленная методом чистых культур.....	74
3.3.7 Сравнение ассоциированной микобиоты <i>Goodyera repens</i> и представителей трибы <i>Pyroleae</i> (<i>Ericaceae</i>).....	79
3.4 Антимикробная активность изолятов грибов.....	80
3.5 Характеристика изолятов <i>Ceratobasidium</i>	83
3.5.1 Анализ схожих последовательностей	83
3.5.2 Ядерный статус.....	85
3.5.3 Фитопатогенность изолятов	86
3.5.4 Ультраструктура мицелия изолятов	88
3.5.5 Биоразнообразие микобионтов подтрибы <i>Goodyerinae</i>	89
3.5.6 Филогения микобионтов подтрибы <i>Goodyerinae</i>	90
3.6 Сравнительная анатомия микоризы эпифитных и наземных орхидных	93
3.6.1 Анатомия микоризы эпифитных орхидных	93
3.6.2 Строение и колонизация водозапасающих клеток корней эпифитных орхидных	95
3.6.3 Строение и колонизация пропускных клеток корней эпифитных орхидных	97
3.6.4 Анатомия микоризы <i>Goodyera repens</i>	97
4. Заключение	100
5. Список сокращений	103
6. Список литературы	104
7. Приложения	132
Приложение 1 Почвенные изоляты, не выявленные в образцах корней <i>G. repens</i>	132
Приложение 2. Средние значения диаметра зоны подавления изолятов	133
Приложение 3. ОТЕ сапротрофов IV квартили, выявленные в корнях <i>G. repens</i>	135

Введение

Степень разработанности и актуальность темы

Коэволюция растений и грибов в микоризном симбиозе является важнейшим определяющим фактором для формирования глобального биоразнообразия и структуры экосистем. Одним из значимых показателей, который определяет функциональную и таксономическую составляющие микоризы, является специфичность, а именно биоразнообразие организмов, способных формировать микоризу определенного типа. Арбускулярная микориза (АМ), появившаяся в процессе эволюции раньше других типов, формируется между представителями всех отделов растений и грибами отдела Glomeromycota, то есть обладает широкой специфичностью. Более узко специфичными являются типы микоризы, появившиеся позже остальных – орхидная (ОМ), арбутоидная (АрМ) и эрикоидная (ЭрМ), образуемые представителями отдельных семейств растений (Strullu-Derrien et al., 2018).

Биоразнообразие грибов, вовлеченных в поздно возникшие типы микоризы, на данный момент изучено недостаточно. Так, для ОМ показано участие базидиомицетов порядков Cantharellales (семейства Ceratobasidiaceae, Tulasnellaceae) (Herrera et al., 2017) и Sebaciniales (Fritsche et al., 2020), а также некоторых сапротрофов и симбионтов эктомикоризы. Для изучения биоразнообразия ассоциированных с орхидными грибов все чаще применяют методы высокопроизводительного секвенирования. Такой подход позволяет выявить весь спектр грибов-микоризообразователей (микобионтов), а также грибов, присутствующих в корнях растений, не вызывая признаков патогенеза и не формируя структур микоризы (эндофитов), а также установить приуроченность определенных таксонов к корню по сравнению с субстратом. Чаще всего биоразнообразие ассоциированной микобиоты изучается в сравнении на примере различных популяций одного вида в разных местообитаниях или различных видов одного местообитания, что позволяет наглядно показать особенности и адаптации конкретной группы орхидных.

На данный момент неясна филогения микобионтов ОМ, в частности семейства Ceratobasidiaceae. Это семейство включает фитопатогенов, эндофитов, сапротрофов и микобионтов ОМ, и на данный момент неясна связь трофического статуса и таксономического положения изолятов. Большинство культурально-морфологических признаков также не имеет таксономической значимости, и в большинстве исследований выявленные изоляты и последовательности не идентифицируются на уровне ниже родового. В связи с этим, изучение морфологических признаков культур, ареала и распространенности изолятов, а также их

приуроченности к тому или иному местообитанию поспособствует внесению ясности в таксономию и экологию представителей этого семейства.

По имеющимся данным приуроченность определенной таксономической группы микобионтов к орхидным не коррелирует ни с экологией, ни с филогенией растений (Martos et al., 2009). В корне одного растения могут быть выявлены различные группы микобионтов, а на уровне популяций орхидные могут быть как генералистами, так и специалистами по отношению к числу ассоциированных таксонов грибов-микоризообразователей (Yagame et al., 2008; Shefferson et al., 2010).

Помимо изучения биоразнообразия ассоциированных микобионтов и эндофитов, пониманию эволюционных адаптаций орхидных способствуют исследования анатомии ОМ. Процесс колонизации корней орхидных микобионтом зависит от строения корня, в связи с чем наиболее интересны адаптации эпифитных орхидных, корни которых приспособлены для запасания воды. Сочетание эпифитами функций водообмена и депо микобионтов изучено недостаточно, и изучение этого феномена позволит лучше понять эволюционные адаптации этой уникальной группы растений (Olatunji, Nengim, 1980; Ramesh et al., 2020).

Актуальность работы заключается в неясности специфичности ОМ, ставящей ряд вопросов касемо экологии и эволюции этого типа симбиоза. Пониманию природы микоризного симбиоза способствует определение экологических факторов, влияющих на специфичность ОМ на примере отдельных видов орхидных, изучение конкурентных преимуществ микобионтов по сравнению с другими видами и визуальной анатомии микоризы.

Цель и задачи

Исходя из актуальных проблем и неясной специфичности ОМ, была сформулирована **цель работы**: изучить микобиоту, ассоциированную с корневой системой, и структурные особенности грибной колонизации орхидных на примере тропических и бореальных видов.

В рамках цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить биоразнообразие грибов, ассоциированных с бореальными и тропическими орхидными на примере *Goodyera repens*, *Zeuxine strateumatica*, *Eulophia graminea* и *Spiranthes hongkongensis*.
2. Установить факторы, влияющие на состав грибного сообщества корней орхидных различных экологических групп.
3. Изучить культурально-морфологические и экологические особенности микобионтов изучаемых видов орхидных.

4. Изучить структурные особенности грибной колонизации тропических эпифитных орхидных в сравнении с наземным бореальным видом *G. repens*.

Объекты исследования

Объектом исследования являются корни орхидных, изученные на предмет биоразнообразия микобионтов и анатомии микоризы. Изучение анатомии микоризы эпифитных орхидных проведено на образцах корней орхидных подсемейства *Epidendroideae*: *Dendrobium* sp., *Gastrochilus* sp., *Thrixspermum* sp. и *Epidendroideae* gen. sp. Биоразнообразие микобионтов орхидной микоризы изучено методом выделения чистых культур на образцах корней тропических наземных орхидных, имеющих схожее местообитание и сезон вегетации: *Eulophia graminea*, *Spiranthes hongkongensis* и *Zeuxine strateumatica*, а также корней бореальной наземной орхидеи *Goodyera repens*, отобранных в различающихся местообитаниях. Разнообразие микобионтов в корнях *G. repens* изучено также методом метагеномного анализа. Для определения антибиотической активности также использованы культуры, выделенные из *Raphiopedilum purpuratum*, культивируемого в оранжерее Национального Центра Охраны Орхидей (Шэньчжэнь, Китай).

Научная новизна и практическая значимость работы

В ходе работы впервые был изучен состав ассоциированной микобиоты корней орхидных *Eulophia graminea*, выявлены неизвестные ранее микобионты и эндофиты, ассоциированные с корнями *Zeuxine strateumatica*, *Spiranthes hongkongensis* и *Goodyera repens*, такие как *Ceratobasidium* spp., *Pithomyces cynodontis*, *Scytalidium circinatum*, *Curvularia lunata*, *Diaporthe phaseolorum*, *Nigrospora oryzae* и *N. sphaerica*. Предположена трофическая, географическая и экологическая приуроченность ассоциированных грибов. Впервые использован метод высокопроизводительного секвенирования для изучения состава ассоциативной микобиоты *Goodyera repens* на территории России и выявлены факторы, влияющие на состав грибного сообщества в корнях *G. repens* разных регионов России. Получены новые данные по антибиотической активности микобионтов и эндофитов орхидных и выявлены изоляты родов *Penicillium*, *Fusarium*, *Umbelopsis* и *Trichoderma*, обладающие высокой антибиотической активностью. Впервые показано влияние гетерогенных элементов кортекса корней эпифитных орхидных на процесс колонизации корня микобионтом.

Таким образом, научная новизна работы состоит в углублении представлений о биоразнообразии, специфичности и экологии микобионтов и эндофитов орхидных, установлении факторов, влияющих на состав ассоциированной микобиоты и регуляции колонизации корней эпифитных орхидных.

Практическая значимость работы обусловлена интересом к орхидной микоризе в связи широким применением орхидных как декоративных и лекарственных растений. На данный момент культивирование орхидных совместно с микобионтами не распространено в промышленных масштабах, однако лабораторные исследования показывают эффективность этого подхода. Биоразнообразие ассоциированных грибов интересно с точки зрения получения новых изолятов грибов, продуцирующих биологически активные вещества. С целью поиска новых биологически активных веществ все чаще изучается антимикробная активность изолятов из неизученных ранее местообитаний, в частности корней орхидных. Высокая антимикробная активность имеет и биологический смысл, свидетельствуя о конкурентоспособности изолята. Более того, установление биотических и абиотических факторов, влияющих на биоразнообразие микобионтов в корнях орхидных, поспособствует не только более глубокому пониманию механизмов функционирования и коэволюции популяций орхидных и их микобионтов, но и позволит найти правильный подход к сохранению и реинтродукции популяций исчезающих видов растений.

Методология и методы исследования

В диссертационной работе использованы классические и современные методы изучения биоразнообразия, анатомии и антибиотической активности. Изучение биоразнообразия ассоциированных грибов проведено с использованием комплексного подхода, включающего как метод чистых культур, так и микробиологическое профилирование методом высокопроизводительного секвенирования. Для обработки данных высокопроизводительного секвенирования использовано программное обеспечение R. Антибиотическая активность изолятов грибов исследована методом диффузии в агар. Для изучения анатомии и морфологии были использованы методы микроскопии: световая, флуоресцентная и конфокальная микроскопия использованы для изучения анатомии микоризы, сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия использованы для наблюдения ультраструктур гиф микобионтов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Относящиеся к роду *Ceratobasidium* микобионты *Zeuxine strateumatica*, *Spiranthes hongkongensis* и *Goodyera repens* являются гемибитрофами и обладают географической и таксономической специфичностью.
2. При доступе *Goodyera repens* к корням хвойных растений, микобионты семейства *Ceratobasidiaceae* частично замещаются микобионтами эктомикоризы.

3. Водозапасающие клетки кортекса корней эпифитных орхидных могут быть колонизированы микобионтом.

Личный вклад автора

Соискатель проявил личное участие на всех этапах выполнения диссертационной работы. Он осуществил планирование исследования, непосредственно участвовал в сборе образцов на территории России и Китая, самостоятельно выполнил выделение чистых культур и пробоподготовку для метабаркодинга и секвенирования, поставил эксперименты, осуществил обработку данных, внес основной вклад в подготовку публикаций, отражающих результаты работы, и лично представил некоторые данные на конференциях в виде устных докладов или постеров.

Апробация и публикация результатов

Основные положения и выводы, полученные в ходе данной работы, изложены в 4 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в ядре РИНЦ и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ:

1. Малышева В. Ф., Малышева Е.Ф., Воронина Е.Ю., Федосова А. Г., **Бибиков Н.М.**, Киселева Д. С., Тиунов А. В., Коваленко А. Е. Микориза грушанковых (*Pyrola rotundifolia*, *P. media* и *Orthilia secunda*): состав грибных симбионтов и трофический статус растений. Микология и Фитопатология. 2017. – Т. 51 (6). – С. 350–364. EDN: [ZVLZYYX](#). Импакт-фактор 0,92 (РИНЦ). 1,85/0,50 п.л.
2. **Bibikov, N. M.**, Voronina, E. Yu., Kurakov, A. V. New records on Archaeorhizomycetes from Russia revealed by metagenomic approach. Mikologiya i Fitopatologiya. 2023. – V. 57 (2). – P. 79–85. EDN: [NIEPKA](#). Импакт-фактор 0,22 (SJR). 0,81/0,79 п.л.
3. **Бибиков Н. М.**, Воронина Е. Ю., Кураков А. В. Микобиота корневой системы *Goodyera repens* (Orchidaceae) в популяциях из трех регионов России. Микология и Фитопатология. 2024. – Т. 58 (3). – С. 195–204. EDN: [VJAEBW](#). Импакт-фактор 0,92 (РИНЦ). 1,16/1,05 п.л.
4. **Bibikov N. M.**, Voronina E. Yu., Eskov A. K., Ignatov M. S. Mycorrhizal colonization of root cortex water storage cells of epiphytic orchids. Botanicheskii Zhurnal. 2025. – V. 110 (1). – P. 64–70. EDN: [EMPHRF](#). Импакт-фактор 0,22 (SJR). 0,81/0,69 п.л.

Основные результаты работы представлены на конференциях:

1. «National Congress on Plant Biology», Шэньчжэнь, Китай, 2020.
2. XI Международная конференция "Проблемы лесной фитопатологии и микологии", Петрозаводск, Россия, 2022.
3. «Actual problems of the chemistry of natural compounds», Ташкент, Узбекистан, 2023.
4. Молодежная школа-конференция «Экстремофильные микроорганизмы и их сообщества», Москва, Россия, 2023.
5. «Геномика, метагеномика и молекулярная биология микроорганизмов», Москва, Россия, 2023.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 135 страницах, содержит 30 рисунков, 19 таблиц и 3 приложения. Диссертационная работа включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение и выводы и список литературы, который включает 284 источника.

Благодарности

Автор выражает глубочайшую благодарность Елене Юрьевне Ворониной за чуткое научное руководство и помощь на всех этапах выполнения работы, Ирине Ивановне Сидоровой и Олегу Анатольевичу Маракаеву за рецензии на текст диссертации, Александру Васильевичу Куракову за помощь в сборе материала и проведении метагеномного анализа, Юлии Алексеевне Рошке и Фарходу Бакировичу Эшбоеву за помощь в изучении антибиотической активности изолятов, Андрею Владимировичу Киташову и Цзя Шуньчао за помощь в изучении микобиоты, ассоциированной с корнями орхидных Шэньчжэня, Алену Кямаловичу Еськову, Михаилу Станиславовичу Игнатову и Андрею Григорьевичу Девятову за помощь в изучении анатомии микоризы эпифитных орхидных, Ольге Владимировне Камзолкиной за помощь в изучении ультраструктур микобионтов, а также Алине Витальевне Александровой, Людмиле Юрьевне Кокаевой, Владимиру Гертрудовичу Онопченко, Максиму Юрьевичу Дьякову, Марии Маратовне Ярмеевой, Татьяне Николаевне Бибиковой, Марии Николаевне Бибиковой и Наталье Александровне Саблевой за помощь и поддержку при выполнении работы.

1. Обзор литературы

Термин «растительный микробиом» означает сообщество микроорганизмов, населяющих эндосферу (внутренний микробиом), филлосферу и ризосферу (внешний микробиом) растения. Бактерии, археи, грибы и протисты играют важную роль в жизнедеятельности растения, способствуя его росту и развитию и повышая устойчивость к болезням и стрессу. Ассоциация растения с микробиомом некоторыми учеными рассматривается как метаорганизм – коэволюционирующая межцарственная система, изучение которой требует внимания ко всем ее элементам (Berg et al., 2016).

Грибы-микоризообразователи являются важнейшими компонентами внутреннего микробиома растений, образуя внутри корня специализированные структуры для обмена питательными веществами. Для большинства типов микоризы доказана мутуалистическая природа взаимодействия, отражающаяся в повышении природной конкурентоспособности как растения, так и гриба. Эти критерии отличают грибы-микоризообразователи от сапротрофных, ризосферных и эндофитных видов (Смит, Рид, 2012).

Эволюционные линии растений и грибов тесно связаны между собой. Наиболее ранние находки свидетельствуют о наличии в раннем девоне аналогов микоризного симбиоза у наземных споровых растений. Тогда же появляется наиболее древний из современных типов микоризы – арбускулярная микориза (АМ). АМ – эндосимбиоз, образуемый грибами отдела *Glomeromycota* – облигатными симбиотрофами, встречающимися исключительно в микоризованных корнях растений. Раннее эволюционное появление АМ объясняет массовость его распространения и встречаемость во всех группах сосудистых растений (Krings et al., 2011; Strullu-Derrien et al., 2018).

Дивергенция семейства *Pinaceae* в поздней юре совпадает по времени с наиболее ранним появлением эктомикоризы (ЭкМ) – внеклеточного симбиоза, образуемого между грибами отделов *Ascomycota* и *Basidiomycota* и древесными растениями. Типы микоризы, появившиеся эволюционно позднее: эрикоидная (ЭрМ), арбутоидная (АрМ) и орхидная (ОМ), образуются между более узкими группами растений и грибов. Появление ОМ относят к среднему мелу (Смит, Рид, 2012; Martin et al., 2016).

Семейство вересковых (*Ericaceae*) представляет интерес с точки зрения микоризных ассоциаций, так как его представители способны формировать четыре типа микоризы: ЭрМ, АрМ, АМ, а также монотропоидную микоризу (ММ) (Смит, Рид, 2012). Типы микоризы внутри этого семейства отражают трофический статус растений. Микогетеротрофные бесхлорофилльные представители подсемейства *Monotropoideae* формируют ММ с высокой

степенью специфичности. Бесхлорофилльные грушанковые (представители подсемейства Pyroloideae) как правило образуют АрМ с более узким кругом микобионтов, чем миксотрофные представители этого рода, но встречаются и генералисты (Hynson, Burns, 2009). Среди грушанковых встречаются представители с различной трофикой, способные питаться как автотрофно, так и микогетеротрофно. Грибное питание грушанковых также зачастую является приспособлением к сциофитному образу жизни. Различия АрМ и ОМ заключаются в таксономическом положении микобионтов: грушанковые чаще всего ассоциированы с ЭкМ грибами таких родов как *Russula*, *Tomentella*, *Sebacina*, *Wilcoxina* и *Inocybe* (Малышева и др, 2017; Jacquemyn, Merckx, 2019; Matsuda et al., 2020; Suetsugu et al., 2021), тогда как орхидные способны формировать микоризу со специфичными микобионтами семейств Ceratobasidiaceae, Tulasnellaceae и Serendipitaceae. Сравнительно малое время коэволюции симбионтов ЭрМ и ОМ обуславливает отсутствие филогенетической обособленности микобионтов, а также специфический спектр экспрессируемых генов и секретируемых ферментов, соответствующий переходным стадиям между сапротрофной и симбиотрофной экологическими стратегиями (Martino et al., 2018).

1.1 Орхидная микориза

Орхидные (Orchidaceae Juss.) – одно из крупнейших семейств сосудистых растений. Число видов оценивается в 26000–28000 (Govaerts et al., 2017; Stevens, 2017), и ежегодно описываются новые таксоны (Meneses, Cootes, 2019; Zhang et al., 2019). Орхидные живут в ассоциации с грибами, образуя орхидную микоризу (ОМ), отличающуюся от других типов микоризы тем, что все растения этого семейства на ранних стадиях развития получают питательные вещества от гриба-микоризообразователя (Смит, Рид, 2012). Особый тип микоризы орхидных может быть обусловлен двумя масштабными горизонтальными переносами митохондриальных генов грибов, произошедшими на протяжении эволюции семейства (Sinn, Barrett, 2020).

Орхидные развиваются из мелких (пылевидных) семян без эндосперма, содержащих минимальный запас собственных питательных веществ и прорастающих в недифференцированный микогетеротрофный протокорм (Arditti, Ghani 2000). На стадии протокорма некоторые орхидные ассоциированы с другими микобионтами, нежели в зрелом состоянии, в то время как у других видов набор микобионтов остается постоянным в течение всего жизненного цикла, и меняется только степень колонизации корня (Qin et al., 2021b). Показано, что микобионты, выделенные из протокорма, стимулируют прорастание семян орхидных эффективнее, чем микобионты зрелых орхидных и эндофиты (Meng et al., 2019; Shao et al., 2020).

Первые свидетельства мутуалистической природы ОМ были опубликованы Данканом Кэмероном на примере фотосинтезирующей орхидеи *Goodyera repens* и ОМ гриба *Ceratobasidium cornigerum*. Кэмерон впервые показал, что транспорт углерода у фотосинтезирующих орхидных в зрелом состоянии направлен от растения к грибу (Cameron et al., 2006, 2008). На данный момент считается, что миксотрофные и микогетеротрофные орхидные также транспортируют питательные вещества грибу. Исследование генетической регуляции формирования ОМ показало, что при образовании микоризы между орхидеей *Serapias vomeracea* и грибом *Tulasnella calospora* активируются гены транспортеров аммония. Этот факт позволяет заключить, что орхидные способны транспортировать в гифы гриба не только продукты фотосинтеза, но и аммоний (Fochi et al., 2017a). Помимо транспорта из гиф живых пелотонов, значительная часть питательных веществ поступает в клетки растения из лизированных гиф. При разрушении пелотонов из гиф высвобождаются органика, а также соединения азота и фосфора, включающиеся в метаболизм орхидеи (Bougoure et al., 2013; Dearnaley, Cameron, 2017). Транспорт питательных веществ в микоризе эпифитных орхидных ставит ряд дополнительных вопросов. Методом стабильных изотопов показано, что эпифиты не получают питательные вещества из живого дерева посредством микобионтов. Таким образом, механизм функционирования микоризы эпифитных орхидных остается под вопросом (Eskov et al., 2020).

На зрелой стадии орхидные разделяются на три группы по степени зависимости от питательных веществ, получаемых от гриба: автотрофы получают органику путем фотосинтеза, микогетеротрофы получают питательные вещества через микоризу, и миксотрофы получают органику из обоих источников (Dearnaley et al., 2012). Соотношение грибного и фотосинтетического питания может зависеть от степени освещенности. Так, на примере *Ophrys insectifera* показано, что растения, произрастающие в лесу, обогащены изотопом ^{13}C по сравнению с луговыми, что указывает на способность орхидных регулировать питание в зависимости от условий среды (Schweiger et al., 2019). Считается, что при миксотрофном питании органика, полученная от гриба, в основном снабжает подземные органы, тогда как фотосинтетический углерод используется в надземной части растения (Lallemand et al., 2019).

Автотрофные, миксотрофные и микогетеротрофные популяции орхидных могут встречаться в рамках одного рода или вида. Сравнение фотосинтезирующих и бесхлорофилльных популяций демонстрирует интересную модель, способную показать специфические приспособления к микоризному питанию. Так, на примере геномов двух видов рода *Platanthera*: фотосинтезирующей *P. zijinensis* и микогетеротрофной *P. guandongensis* было показано, что микогетеротрофные орхидные во взрослом состоянии сохраняют экспрессию

генов трегалазы – фермента, необходимого для получения глюкозы из трегалозы грибов, в то время как у фотосинтезирующих орхидных этот ген активен только на стадии протокорма (Li M.H. et al., 2022). На примере популяций *Epipactis helleborine* выявлены гены, сильнее экспрессирующиеся у бесхлорофилльных растений: среди них, гены общего симбиотического сигнального пути, а также гены окислительного стресса, вероятно регулирующие лизис пелотонов (Suetsugu et al., 2017).

При сравнении бесхлорофилльных и фотосинтезирующих популяций *Goodyera velutina* показано, что они обладают схожим набором микобионтов, однако микогетеротрофные растения, в отличие от фотосинтезирующих, получают органический углерод исключительно от гриба (Suetsugu et al., 2019). В случае рода *Cymbidium* автотрофные и микогетеротрофные представители различаются по биоразнообразию микобионтов: первично автотрофные виды ассоциированы преимущественно с представителями семейства Tulasnellaceae, тогда как микогетеротрофы – с представителями порядка Sebaciales. Промежуточная стадия – миксотрофы, ассоциированы с широким спектром микобионтов (Ogura-Tsujita et al., 2012). Такие модели хорошо описывают изменения в составе микобиоты с переходом к полной микогетеротрофии и показывают, что для разных эволюционных линий свойственны различные адаптации и, как результат, формирование ОМ с разными группами микобионтов вне зависимости от трофического статуса.

1.2 Микобионты орхидной микоризы

Изучение биоразнообразия грибов, способных к образованию микоризы с орхидными, и приуроченности симбионтов дает представление о специфичности орхидной микоризы – важного показателя, находящего отражение в эволюции симбиотических систем. На данный момент не установлены факторы, обуславливающие присутствие определенного микобионта в корнях того или иного вида орхидных.

Первыми микобионтами, выявленными в ассоциации с орхидными, являются базидиомицеты семейства Ceratobasidiaceae (Fuller, 1909). Позже в ассоциации с орхидными были выявлены представители семейства Tulasnellaceae (Oberwinkler et al., 2017) и порядка Sebaciales (Warcup, Talbot, 1967; Weiß et al., 2016).

Из симбиотических представителей Ceratobasidiaceae первым был описан анаморфный род *Rhizoctonia*, впоследствии оказавшийся формальным, с телеоморфами, принадлежащими к нескольким семействам порядка Cantharellales. На данный момент описание новых таксонов проводят по телеоморфной стадии, однако из-за неясной филогении семейства зачастую используется название формального рода – «*Rhizoctonia*» (Veldre et al., 2013; Пильщикова,

Ганнибал, 2016). В настоящее время семейство Ceratobasidiaceae является монофилетичным таксоном внутри порядка Cantharellales наряду с сестринскими Botryobasidiaceae и Tulasnellaceae (Gonzalez et al., 2016). Грибы семейства Ceratobasidiaceae обладают скудной морфологией, в связи с чем для описания новых таксонов и построения филогении использовались различные косвенные признаки. Морфология базидий была использована для описания родов (Tu, Kimbrough, 1978), в то время как на видовом уровне имели силу косвенные признаки, такие как таксономическая принадлежность растения-хозяина (Constantin, Dufour, 1920), ядерный статус и анастомозная группа изолятов.

Число ядер в клетках мицелия представителей семейства Ceratobasidiaceae считается важным таксономическим признаком. Существуют одно-, дву- и многоядерные изоляты. Часто двуядерные изоляты объединяют в род *Ceratobasidium*, а многоядерные – в род *Thanatephorus*. Такое разбиение коррелирует с филогенией по участку ITS, однако имеются и исключения (Veldre et al., 2013).

Одноядерные изоляты, часто объединяемые в вид *Ceratobasidium bicornе*, встречаются реже остальных и наименее изучены. Предполагается, что такие штаммы являются результатом соматической гибридизации двуядерных штаммов и обладают диплоидным ядром (Пильщикова, Ганнибал, 2016; Li et al., 2021). Одноядерные изоляты обладают меньшей по сравнению с дву- и многоядерными штаммами патогенностью (Zhou et al., 2016) и реже встречаются в ассоциации с орхидными (Otero et al., 2002).

Двуядерные изоляты, телеоморфой которых является *Ceratobasidium cornigerum*, чаще других выявляются в ОМ (Kataria, Hoffman, 1988; Soelistijono et al., 2020), но также способны вызывать заболевания растений (Hietala et al., 2001; Newton et al., 2010; Пильщикова, Ганнибал, 2016). Тем не менее, благодаря меньшей по сравнению с многоядерными штаммами патогенностью, микоризные и эндофитные изоляты показывают эффективность при биологическом контроле заболеваний растений, накапливая на поверхности гиф полисахариды, не позволяющие патогенам проникнуть внутрь корня растения (Elsharkawy et al., 2014; Aydin, 2022).

Многоядерные изоляты по большей части являются некротрофными фитопатогенами. К многоядерным относится анаморфный вид *Rhizoctonia solani* (телеоморфа *Thanatephorus cucumeris*), вызывающий заболевания агрокультур, такие как черная парша клубней и язва стеблей картофеля (Кузнецова, Ерохова, 2021). Существуют единичные свидетельства ассоциации многоядерных штаммов с корнями орхидных, однако такие сообщения существенно реже, чем относительно двуядерных изолятов (Hossain, 2019).

Двухядерные и многоядерные изоляты обладают различными наборами анастомозных групп (АГ), внутри которых может происходить скрещивание. У многоядерных изолятов выделяют 13 АГ (1–13), у двухядерных – 23 (А–W). Изоляты определенной АГ зачастую обладают сходным типом питания, а также кластеризуются на кладограммах по участку ITS (Yang et al., 2015; Yarmeeva et al., 2021). Среди АГ двухядерных штаммов существуют как фитопатогенные, так и не способные вызывать заболевания растений (Tuncer, Eken, 2013; Muzhinji et al., 2015). Таким образом, АГ и ядерный статус являются таксономически важными признаками внутри семейства *Ceratobasidiaceae*, имеющими потенциал для использования в качестве маркеров для построения кладограмм и определения экологической роли.

В современной системе все ранее описанные роды семейства *Ceratobasidiaceae* синонимизированы с *Ceratobasidium* или *Thanatephorus*, однако монофилетичность этих родов на данный момент полностью не подтверждена (Robert et al., 2013; Gonzalez et al., 2016). Эти рода включают фитопатогенов, сапротрофов, эндофитов и микобионтов ОМ. Кроме них, сохранился род *Waitea*, также включающий как фитопатогенов, так и симбионтов ОМ (Athipunya et al., 2004; Toda et al., 2007). Попытки построить филогению семейства показали, что дивергенция по участку ITS лишь частично коррелирует с типом питания, анастомозной группой и ядерным статусом изолятов. Патогенные изоляты, несмотря на неоднократное происхождение в течение эволюции, филогенетически обособлены, а симбионты ОМ кластеризуются с сапротрофными изолятами, что позволяет предположить происхождение микобионтов от сапротрофов ввиду их доступности в почве. Тем не менее, для построения точной филогении и ревизии семейства требуется введение дополнительных генетических маркеров (Oberwinkler et al., 2013; Veldre et al., 2013). Для прояснения филогении и эволюции семейства крайне важны исследования, выявляющие зависимость присутствия определенных ОТЕ от абиотических факторов. Впоследствии такие работы будут необходимы при таксономической ревизии семейства и выделения новых родов и видов (Freestone et al., 2021).

Представители порядка *Sebacinales* были обнаружены в ОМ позднее, чем *Ceratobasidiaceae* (Warcup, Talbot, 1967). Порядок включает два семейства: *Sebacinaceae*, представители которого являются симбионтами ЭкМ за редким исключением в виде отдельных групп сапротрофов, и *Serendipitaceae*, представители которого являются эндофитами и микоризообразователями с широким экологическим спектром, включая ОМ, ЭрМ, АрМ и ЭкМ (Robert et al., 2013; Weiß et al., 2016). Семейство *Serendipitaceae* включает единственный род *Serendipita*, представители которого широко распространены в ассоциациях с растениями. Различные таксономические группы орхидных формируют микоризу с представителями рода

Serendipita, однако вне зависимости от таксономического положения, места произрастания и экологии (Oktalira et al., 2021). Зачастую массовое выявление последовательностей этих грибов в ассоциации с орхидными предшествует описанию вида микобионта, как в случае *S. restingae* (Fritsche et al., 2021). Таким образом, происходит недоучет вида в качестве микобионта.

Представители семейства Tulasnellaceae также обладают широким спектром микоризной активности, формируя как ЭкМ, так и ОМ (Oberwinkler et al., 2017). Некоторые орхидные способны специфично формировать ОМ с представителями этого семейства вплоть до эволюционного закрепления ассоциаций, таких как *Serapias vomeracea* – *Tulasnella calospora* (Roche et al., 2010; Rammitsu et al., 2021).

Представители порядка Sebaciales и семейств Ceratobasidiaceae и Tulasnellaceae считаются наиболее распространенными микобионтами ОМ и формируют микоризу с орхидными различных таксономических и экологических групп, при этом редко демонстрируя четкую таксономическую приуроченность (Qin et al., 2021a). Показано, что представители вышеупомянутых таксонов микобионтов ОМ явно тяготеют к корням орхидных, существенно реже встречаясь на субстрате: в свободной почве в случае наземных орхидных и на коре деревьев в случае эпифитов. Такое распределение ОМ грибов свидетельствует о локальном изменении структуры сообщества в месте произрастания орхидей и наличие ризосферы, уникальной по таксономическому составу (Waud et al., 2016a, b; Petrolli et al., 2021), что характерно и для других типов микоризы (Peršoh, 2015). Тяготение ОМ грибов к корням орхидных также свидетельствует о роли растения в физической защите микобионта (Calevo et al., 2021).

Реже в ассоциации с орхидными встречаются представители других таксонов грибов. Представители семейства Russulaceae, эктомикоризообразователей, также способны формировать ОМ как специфично (Girlanda et al., 2006), так и наряду с другими микобионтами (Voronina et al., 2018; Pecoraro et al., 2020). Некоторые орхидные способны вступать в симбиоз с эктомикоризообразующими аскомицетами. Например, *Epipactis helleborine* и *E. microphylla* тяготеют к микобионтам родов *Tuber* и *Wilcoxina* (Selosse et al., 2004; Suetsugu et al., 2017).

Представители микогетеротрофного рода *Gastrodia* на стадии протокорма способны формировать ОМ с представителями сапротрофного рода *Mycena*, а на зрелой стадии менять микобионта на подстилочного сапротрофа рода *Gymnoporus*. Такая ассоциация показана для видов *Gastrodia confusoides* (Li Y. Y. et al., 2022), *G. elata* (Xu, Guo, 2000), *G. pubilabiata* (Higaki et al., 2017) и *G. similis* (Martos et al., 2009), а также для вида *Wulfschlaegelia aphylla*. Для вида *G. elata* также показана ассоциация с ксилотрофами рода *Armillaria* (Cha, Igarashi, 1995; Liu et al.,

2010). Предполагается, что орхидеи, ассоциированные с сапротрофными грибами, способны приманивать их из субстрата – мертвой древесины и листового опада (Martos et al., 2009).

В качестве микобионтов ОМ в 2010 году были обнаружены представители класса *Atractiellomycetes* (Pucciniomycotina, Basidiomycota), до этого момента считавшиеся сапротрофами и патогенами. Как микобионты *Atractiellomycetes* выявлены методом сканирующей электронной микроскопии по характерному строению септ в гифах, образующих пелотоны (Kottke et al., 2010). Представители этого класса зачастую выявляются молекулярными методами в корнях орхидных тропиков Нового Света, тогда как в других регионах чаще всего имеют меньшую представленность, чем типичные микобионты ОМ (Avila-Diaz et al., 2013; Suarez et al., 2016).

Помимо упомянутых выше таксономических групп, в корнях орхидных зачастую выявляются представители других порядков базидиомицетов: Trechisporales, Thelephorales, Polyporales, Auriculariales, Hymenochaetales, Boletales, Atheliales и Tremellales, а также ряда порядков аскомицетов. Несмотря на регулярность выявления представителей этих порядков в корнях различных орхидных, данные по их экологической роли и способности формировать ОМ скудны, что не позволяет с уверенностью приобщить эти группы к микобионтам ОМ (Wang et al., 2022).

Многие орхидные ассоциированы более чем с одним микобионтом (Xing et al., 2013), а в процессе развития способны менять грибное сообщество. Смена может происходить как в сторону увеличения числа микобионтов, так и в сторону его уменьшения, и зависит в первую очередь от динамики сообщества микобионтов в субстрате (Ventre Lespiaucq et al., 2021). Факторы среды, влияющие на смену сообщества, остаются неясны, а учитывая зависимость орхидных от сообщества микобионтов в субстрате, такая модель является крайне интересной с точки зрения популяционной экологии и видообразования. Далее рассмотрены некоторые факторы, вероятно влияющие на формирование популяций орхидных и их микобионтов: географический регион, таксономическая принадлежность и трофика орхидных и ОМ грибов.

Географическая изоляция популяций и видов орхидных сопровождается сменой грибного сообщества. Так, отдаленные друг от друга популяции орхидных одного вида обладают различными микобионтами, как показано на примере *Epipactis helleborine* и *Gymnadenia conopsea* (Xing et al., 2020a) или иметь различный состав микобионтов в зависимости от географического региона, при этом сохраняя одного основного микобионта, как показано на примере популяций *Spiranthes spiralis* (Duffy et al., 2019). Близкородственные виды могут иметь различную экологическую приуроченность и формировать ОМ с различными

группами микобионтов в зависимости от местообитания, как показано на примере нескольких видов рода *Dactylorhiza* (Jacquemyn et al., 2016) и *Dendrobium* (Xing et al., 2013). Виды орхидных и их микобионты показывают четкую пространственную корреляцию в совместной встречаемости: произрастание популяций орхидных привязано к местам выявления ОМ грибов. Взяв в расчет зависимость орхидных от наличия микобионта, а также факультативную сапротрофность специфичных микобионтов ОМ, можно утверждать, что именно микобионты обуславливают пространственное распределение произрастания орхидных и кластерную структуру популяций (Waud et al., 2016).

Различные микобионты наблюдаются у разных видов орхидных одного местообитания, как показано на примере семи видов, произрастающих на горе Сон (Китай). С другой стороны, близкородственные виды-генералисты, населяющие схожие местообитания, обладают схожим набором микобионтов, как показано на примере видов рода *Dendrobium* (Xing et al., 2020b). Различие таксономического состава микобионтов орхидных одного местообитания крайне важно, так как стимулирует разделение экологических ниш, способствуя видообразованию и расширению биоразнообразия (Chen Y. et al., 2019). С точки зрения изучения механизмов симпатрического видообразования крайне интересна модель близкородственных видов рода *Platanthera*: *P. bifolia* и *P. chlorantha*. Эти виды способны произрастать совместно и активно гибридизуются, образуя растения с промежуточного морфотипа (Esposito et al., 2018). Репродуктивная изоляция *P. bifolia* и *P. chlorantha* обеспечивается различным строением поллиний, доступностью нектара и разнесенным во времени пиком цветения, однако этих факторов недостаточно, чтобы обеспечить полную изоляцию (Nilsson, 1983; Маевский, 2014). Оба вида преимущественно формируют ОМ с представителями семейства Ceratobasidiaceae. Различия между ассоциированными сообществами в смешанных популяциях оказались не столь явными, как в чистых, а состав микобиоты гибридов ближе к таковому у *P. bifolia*, как и набор морфологических признаков, что указывает на важную роль грибов-микоризообразователей в симпатрическом видообразовании у орхидных, предположительно посредством низкой совместимости с семенами гибридов (Esposito et al., 2016).

Среди орхидных встречаются как генералисты, так и специалисты по отношению к числу видов грибов, с которыми формируется ОМ (Yagame et al., 2008; Shefferson et al., 2010). Так, многие эпифитные орхидные, занимая экстремальную экологическую нишу, способны ассоциироваться лишь с узким кругом микобионтов (Rammitu et al., 2019; Qin et al., 2021a). Также специалистами, как правило, являются эндемичные и редкие виды (Claro et al., 2020). Генералисты способны к формированию микоризы с широким кругом микобионтов, зачастую в корнях одного растения выявляется несколько различных микобионтов (Xing et al., 2013). Такие

виды имеют конкурентное преимущество при сукцессионных процессах, а также при произрастании в нарушенных и антропогенных местообитаниях (Izuddin et al., 2019; Vogt-Schlib et al., 2020). Специалисты и генералисты есть и среди микобионтов. Показано, что в некоторых случаях схожий таксономический состав наблюдается у орхидных разных видов в одном местообитании или у одного вида в различных местообитаниях (Herrera et al., 2019). Касаемо экологической стратегии грибов известно меньше, чем про орхидные, несмотря на то что их экологическая роль не менее важна.

Зависимость типа питания орхидей от состава микробиома до сих пор остается предметом дискуссии. Предполагается, что орхидные, образующие микоризу с грибами формального рода *Rhizoctonia*, чаще являются автотрофами, тогда как ассоциированные с ЭЖМ и сапротрофными таксонами растения склонны к смешанному и микогетеротрофному питанию (Hynson et al., 2013), яркий пример – микогетеротрофные орхидные рода *Gastrodia*, ассоциированные с сапротрофными микобионтами (Xu, Guo, 2000; Martos et al., 2009; Higaki et al., 2017). Тем не менее, прямых подтверждений четкой корреляции пока нет (Jacquemyn et al., 2017, 2021).

Таким образом, имеется много данных, указывающих на связь абиотических и физиологических факторов с формированием ОМ тем или иным микобионтом. Такие факторы, как освещенность, особенности местообитания и географический регион произрастания зачастую обуславливают различие ассоциированной микобиоты близкородственных таксонов орхидных. Абиотические факторы имеют особое значение, так как обуславливают доступность микобионта в субстрате, стимулируя отбор определенных симбиотических связей различной степени специфичности. Таксономическая принадлежность растения-хозяина, его трофика и физиологические особенности, отбираемые в процессе обособления определенной эволюционной линии, зачастую обуславливают уникальное биоразнообразие микобионтов. Тем не менее, ввиду относительно малого времени коэволюции симбионтов ОМ, внутри каждой экологической, географической и таксономической группы орхидных существует разнообразие адаптаций, обуславливающих различный состав микобиома, и поиск новых микобионтов, специфичных для определенного вида растений или географического региона, расширит знания касемо эволюции и типов питания симбионтов ОМ.

1.3 Эндифиты орхидных

Помимо грибов-микоризообразователей в корнях растений, и, в частности, орхидных, присутствуют бессимптомные эндифиты, регулярно отмечающиеся в ассоциации с корнями, не образуя структур микоризы. Роль эндифитов и их влияние на жизнедеятельность растений ясна

не полностью. Известно, что эндофиты способны продуцировать метаболиты, стимулирующие рост орхидных, а также в некоторых случаях способны стимулировать прорастание семян *in vitro* и повышать стрессоустойчивость хозяина (Yuan et al., 2010; Meng et al., 2019; Shah et al., 2019).

В корнях орхидных наиболее часто отмечаются неклавиципитоидные эндофиты, в частности представители нетаксономической группы темных септированных эндофитов (ТСЭ), такие как *Phialocephala* spp., *Cladophialophora* spp., *Exophiala* spp. ТСЭ – группа аскомицетов, формирующих темноокрашенные гифы внутри корней широкого спектра растений-хозяев. ТСЭ способны повышать устойчивость растений к абиотическому стрессу и облегчать усвоение неорганических веществ из субстрата. Некоторые исследователи рассматривают эндофитов, в частности ТСЭ, как переходную стадию от сапротрофии к формированию микоризы (Jumpponen, 2001; Ruotsalainen et al., 2022).

Также в корнях орхидных распространены эндофиты широкого экологического спектра: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Cladosporium* и другие (Bayman, Otero, 2007; Xing Y. et al., 2011). Широко представлены порядки Helotiales и Xylariales, также включающие эндофитов с широким экологическим спектром (Kohout et al., 2013; Özkale, 2019).

Эндофиты, ввиду своей приуроченности к экологической нише с высокой конкуренцией, часто показывают высокую антимикробную активность, которая зачастую является изолят-специфичной (Xing Y. et al., 2011), а также способны продуцировать фитогормоны (Tsavkelova et al., 2008). Высокая антимикробная активность обуславливает конкурентное преимущество эндофитов и способность подавлять рост других микроорганизмов внутри корня растения-хозяина (Adil et al., 2023).

Биоразнообразие эндофитных грибов и их представленность может различаться в различных органах орхидных (Sawmya et al., 2013), а также меняться в зависимости от стадии развития зрелого растения: вегетация, цветение и плодоношение (Herrera-Rus et al., 2020). Временная динамика сообщества эндофитов орхидных в некоторых случаях может быть более стабильной, нежели чем сообщество микоризообразователей (Huang et al., 2022).

Помимо грибов, корни и ризоплана орхидных населены бактериями, стимулирующими рост растений (plant-growth promoting rhizobacteria, PGPR). Роль их также ясна не окончательно, однако известно, что многие из них способны продуцировать фитогормоны, в частности ауксин, стимулируя рост растений (Júnior et al., 2011; Tsavkelova, 2011; Сидоров и др., 2020), а также способны стимулировать прорастание семян *in vitro* (Tsavkelova et al., 2007; Teizeira da Silva et al., 2015b). Цианобактерии, населяющие веламен воздушных корней эпифитных

орхидных, способны также фиксировать азот, однако способность их транспортировать азот внутрь корней орхидных не показана (Tsavkelova et al., 2003).

Таким образом, грибы-эндофиты, колонизирующие корни орхидных и способные влиять на метаболизм хозяина, наряду с микобионтами являются важной частью ассоциативной микобиоты. Изучение этой группы организмов важно с целью установления влияния их на метаболизм растений, определения экологической роли и выявления изолятов, обладающих способностью продуцировать биологически активные вещества.

1.4 Подтриба *Goodyerinae*

Подтриба *Goodyerinae* относится к трибе *Cranichidae* семейства *Orchidaceae* и включает около 27 родов наземных, преимущественно тенелюбивых растений (Chen S. P. et al., 2019). Наиболее крупные по числу видов роды подтрибы – *Goodyera*, произрастающая в регионах умеренного климата Европы, Азии и Северной Америки (Kallunki, 1976), и *Anoectochilus*, произрастающий в тропических регионах Азии и Америки (Zettler et al., 2012; Bon et al., 2020.).

Представители трибы *Cranichidae*, и, в частности, подтрибы *Goodyerinae*, ассоциированы преимущественно с микобионтами семейства *Ceratobasidiaceae*. Помимо крупных родов *Goodyera* и *Anoectochilus*, это показано для многих других представителей, в частности *Zeuxine strateumatica* (Porter, 1942).

В средней полосе России произрастает единственный представитель подтрибы – *Goodyera repens* (L.) R.Br. in W.T.Aiton – клональная орхидея, способная к вегетативному размножению корневищами. *G. repens* населяет хвойные леса Северного полушария, доходя на юг до средиземноморья (Tsiftsis et al., 2012; Łazarski, 2021). По данным изотопного анализа *G. repens* является автотрофом (Hynson et al., 2009; Voronina et al., 2018).

Наиболее распространенными микобионтами *G. repens* считаются представители семейства *Ceratobasidiaceae*, а именно *Ceratobasidium cornigerum*, изначально описанный как *Rhizoctonia goodyerae-repentis* (Constantin, Dufour, 1920; Cameron et al., 2006). Этот вид является двуядерным гемибіотрофом, способным как к патогенезу, так и к образованию ОМ (Newton et al., 2010). На примере нескольких видов рода *Goodyera* показано, что на уровне популяции эти орхидные способны формировать ОМ с несколькими представителями семейства *Ceratobasidiaceae*, и среди них есть как специалисты, так и генералисты (Shefferson et al., 2010). Более того, выявление эктомикоризных грибов в корнях *G. repens* свидетельствует о способности этого вида к образованию микоризных сетей (Voronina et al., 2018).

Микориза *G. repens* является объектом исследований на протяжении 80 лет (Downie, 1943). Тем не менее, данные по структуре ассоциированного грибного сообщества и разнообразию микобионтов на данный момент неполные. В недавних работы, направленных на исследование биоразнообразия микобионтов и эндофитов *G. repens* методами секвенирования (Shefferson et al., 2010, Voronina et al., 2018), не приводится обсуждение таксономической и географической специфичности популяций *G. repens* по отношению к микобионтам и не приводятся данные по биологии микобионтов. Получение таких данных существенно расширит современные представления об экологии и эволюции орхидной микоризы, в частности вида-специалиста *G. repens*.

1.5 Процесс колонизации и анатомия орхидной микоризы

Анатомия структур, образуемых микоризным грибом, находящимся в ассоциации с корнем растения, является прямым отражением эволюционных адаптаций к симбиотическому образу жизни, а также остается наиболее явным способом установить тип микоризы, образуемый определенным видом растений.

Колонизация корней орхидных микобионтом может происходить на стадиях протокорма через суспензоры или зрелого растения через корневые волоски или эпидермальные клетки. Проникновение гриба сквозь клеточные покровы растения осуществляется посредством карбогидраз, синтезируемых как грибом, так и растением. В клетках кортекса корней формируются гифальные клубки для обмена питательными веществами — пелотоны, окруженные цитоплазматической мембраной растения, в которую включены транспортеры и переносчики, необходимые для транспорта питательных веществ (Смит, Рид, 2012, Dearnaley et al., 2012).

В корнях зрелых орхидных также наблюдается динамика развития грибной колонизации. Гифы развиваются вместе с ростом корня, формируя пелотоны в молодых участках, тогда как в более старых корнях пелотоны лизируются, высвобождая питательные вещества, поступающие в клетки корня растения. Прохождение гиф ОМ гриба сквозь стенки клеток кортекса корня вероятно происходит посредством их локального разрушения карбогидразами, так как плазмодесмы обладают малым размером по сравнению с массивными гифами базидиальных грибов (Jonsson, Nylund, 1978). Необходимость в ферментах для колонизации корней растения объясняет неполную утрату ОМ грибами генов ферментов, разрушающих клеточную стенку (в англоязычной литературе — PCWDE, plant cell wall degrading enzymes). Утрата этих генов считается верным признаком перехода гриба к симбиотическому образу жизни, как показано на примере ЭкМ и АМ. Микобионты ОМ могут считаться исключением из этого правила, так как в

случае ЭкМ отсутствует внутриклеточная колонизация, а в случае АМ гифы гломерицетов достаточно тонки, чтобы пройти сквозь плазмодесмы (Miyauchi et al., 2020). Трофика растений не влияет на процесс колонизации, и развитие происходит схожим образом у автотрофов и микогетеротрофов (Rasmussen, Whigham, 2002).

Эпифитные орхидные имеют ряд морфологических особенностей, обусловленных обитанием в экстремальных засушливых местах и требующих специфических приспособлений для колонизации грибом. Утолщенные листья, псевдобульбы и САМ-метаболизм позволяют эпифитам эффективно накапливать воду и избегать ее потери, а ОМ обеспечивает питание (Zhang et al., 2018). Воздушные корни эпифитов способны свободно расти в воздушном пространстве или крепиться к древесному субстрату (такие корни далее по тексту будут называться «субстратными»). Корни эпифитных орхидных покрыты многослойным веламеном – слоем мертвых клеток, осуществляющим механическую защиту и служащим для впитывания, накопления и удержания влаги, компенсируя недостаток корневых волосков (Idris, Collings, 2014; Zhang et al., 2018). Под веламеном находится экзодерма, состоящий из двух типов клеток – экзодермальных с лигнифицированной клеточной стенкой и пропускных клеток, не имеющих утолщения. Пропускные клетки служат для поддержания водного баланса, а также для проникновения микобионта в кортекс (Porembski, Barthlott, 1988; Chomicki et al., 2014). Процесс регуляции водо- и газообмена заключается в способности клеток экзодермы расширяться, перекрывая пропускные клетки и задерживая воду внутри корня (Roth-Nebelsick et al., 2021). Кортекс эпифитных орхидных содержит лигнифицированные трахеоидные элементы – водозапасающие клетки, также являющиеся адаптацией к заселению сухих местообитаний (Olatunji, Nengim, 1980; Ramesh et al., 2020).

Таким образом, особенности грибной колонизации корней орхидных обуславливают эволюционные адаптации, обособляющие микобионтов ОМ от других клад, а необходимость экспрессии карбогидраз позволяет микобионтам поддерживать гемибитрофный образ жизни, сочетая способность к сапротрофному и симбиотическому существованию. Процесс колонизации корней эпифитных орхидных особенно важен и интересен, так как функции корня как депо микобионта и как водозапасающей структуры взаимодействуют, и механизм этого взаимодействия не изучен.

1.6 Регуляция формирования орхидной микоризы

Первичная колонизация и рост гиф микоризообразующего гриба внутри клеток корней орхидных сопровождается обоюдной экспрессией специфичного набора генов, регулирующего образование структур ОМ. Каскад передачи сигнала, который активируется в клетках растения

в ответ на выделение грибами производных клеточной стенки, называется общий симбиотический сигнальный путь (ОССП). ОССП свойственен любому типу внутриклеточного симбиоза растений с микроорганизмами: как микоризного, так и ризобияльного, и разделяется на три основные стадии: (1) рецепция, (2) передача сигнала и (3) транскрипция. Как результат, запускается программа аккомодации гриба внутри растительных клеток и формирования структур микоризы (Maclean et al., 2017). Процесс формирования ОМ исследован фрагментарно, однако существующие данные свидетельствуют о сходстве его с другими типами симбиоза. В данном разделе описаны основные этапы процесса генетической регуляции первичного формирования ОМ и грибной колонизации корня.

Формирование любого типа микоризного симбиоза начинается с обмена химическими сигналами между грибом и растением. Первичными сигналами, запускающими каскад передачи сигнала, являются производные хитина клеточной стенки гриба: хитоолигосахариды (ХО) и липохитоолигосахариды (ЛХО). Основными сигнальными молекулами считаются ЛХО, несущие модификации в виде сульфогрупп и липидных радикалов. ЛХО являются специализированными молекулами, запускающими сигнальный каскад в клетках растений. ХО, олигомеры N-ацетилглюкозамина, также могут активировать ОССП в растениях (Gough, Cullimore, 2011).

На стадии рецепции ЛХО взаимодействуют с комплексом мембранных рецептор-подобных киназ с лизиновым мотивом (LysM-киназ). Активация этих киназ характерна для этапа рецепции любого взаимодействия: как микоризы, так и патогенеза, и обладает обратной регуляцией путем снижения экспрессии LysM-киназ после передачи сигнала внутрь клетки, как показано на примере орхидеи *Limodorum abortivum* (Valadares et al., 2021). Помимо LysM-киназ рецепцию осуществляют киназы SymRK, более специфичные для передачи мутуалистического сигнала (Zhang G.Q. et al., 2017; Miura et al., 2018).

Киназы воспринимают сигнал грибных элиситоров и передают его внутрь клетки. Путь передачи сигнала от мембраны к ядру известен не полностью, но выявлены основные белки, участвующие в этой стадии. Предполагается, что сигнал передается посредством мевалоната, так как происходит активация гена фермента мевалонатного пути HMGR (Zhang et al., 2014). Для орхидных показано только наличие соответствующих генов, но активация их при формировании ОМ не исследована (Radhakrishnan et al., 2020). Известно, что передача сигнала из цитоплазмы в ядро происходит посредством создания на ядерной мембране потенциала Ca^{2+} путем работы ионных каналов DMI (Ane et al., 2004), а также Ca^{2+} каналов CNGC15 и K^{+} каналов CASTOR/POLLUX (Charpentier et al., 2016). Флуктуации кальция распознает ядерная

кальций-кальмодулин зависимая киназа (CCaMK), активирующая факторы транскрипции (Miller et al., 2013).

Киназа CCaMK активирует факторы транскрипции, из которых у орхидных известен белок CYCLOPS. CYCLOPS посредством взаимодействия с неизвестными для орхидных регуляторными белками запускает экспрессию генов, отвечающих за формирование структур микоризы (Maclean et al., 2017; Radhakrishnan et al., 2020).

На стадии формирования пелотонов у орхидеи *Serapias vomeracea in vitro* показано повышение экспрессии компонента комплекса EXOCYST (SvEXO), отвечающего у АМ растений за формирование периабрускулярной мембраны (Fochi et al., 2017a), а орхидеи *Apostasia shenzhenica* и *Dendrobium catenatum* обладают комплексом Exo70, который, как известно для АМ растений, отвечает за формирование внутриклеточных структур (абрускул) (Zhang et al., 2016, 2017). *In vivo* у *L. abortivum* зафиксировано повышение экспрессии белков семейства SNARE: синтаксина-132 и, предположительно, синаптотагмина. Они участвуют в формировании контактной зоны гриб-растение, экзоцитозе, везикулярном транспорте и образовании симбиотической мембраны (Valadares et al., 2021).

При формировании ОМ *in vivo* и *in vitro* происходит модификация клеточной стенки *L. abortivum* и *Cymbidium hybridum*: повышается экспрессия ксиланглюканаз, целлюлаз и целлюлозосинтазы, снижается экспрессия метилэстераз пектина, и повышается экспрессия их ингибиторов, благодаря чему пектины в клеточной стенке оказываются в существенной степени метилированы. Это способствует разрыхлению клеточной стенки растения и, предположительно, развитию грибных пелотонов. Это предположение также подтверждается повышением экспрессии генов, кодирующих экспансины и субтилизин-подобные сериновые протеазы (Zhao et al., 2014; Valadares et al., 2020, 2021). Одновременно с этим происходит снижение экспрессии фасцилин-подобных арабиногалактановых белков, предположительно отвечающих за клеточную адгезию и регуляцию формирования клеточной стенки (Huang et al., 2013; Valadares et al., 2020).

Рост гриба внутри ткани растения может регулироваться тканеспецифичной секрецией стриголактонов. *In vivo* у микогетеротрофной орхидеи *Gastrodia elata* и микобионта *Armillaria mellea* показано, что экспрессия генов, связанных с синтезом стриголактонов, значительно повышена в кортексе подземного клубня орхидеи, где происходит рост *A. mellea* (Yuan et al., 2018).

Главная особенность ОМ в сравнении с другими типами микоризы заключается в частичной или полной микотрофии орхидных. В связи с миксотрофным или

микогетеротрофным питанием орхидных наиболее важные и уникальные особенности ОМ должны быть отражены в наборе транспортеров и переносчиков, отвечающих за транспорт веществ от одного симбионта к другому. Показано, что у протокормов орхидеи *S. vomeracea* при инокуляции грибом *Tulasnella calospora in vitro* повышается экспрессия генов пермеаз аминокислот, а также транспортеров аммония, олигопептидов и пептидов. Экспрессия этих генов повышается только в микоризованных клетках. В ОМ корней зрелой орхидеи *L. abortivum in vitro* выше экспрессия пермеаз и переносчиков аминокислот и переносчиков коротких пептидов. Эти данные указывают на то, что орхидеи могут получать от гриба азот и углерод в форме аминокислот вне зависимости от стадии развития (Fochi et al., 2017a, b; Valadares et al., 2021). Полагают, что аргинин в гифах гриба расщепляется с образованием мочевины, которая затем транспортируется в ткани растения, где катаболизируется до аммония (Yuan et al., 2018).

В присутствии гриба у *L. abortivum* и *C. hybridum* повышается экспрессия переносчиков неорганического фосфата, причем она неспецифична для микоризного симбиоза и происходит как при инокуляции орхидных грибами-эндофитами *in vitro*, так и в неколонизированных корнях по сравнению с микоризованными *in vivo* (Zhao et al. 2014; Valadares et al. 2021). Специфично повышается также в клетках ОМ корней экспрессия генов транспортеров сахаров, меди и кальция (Perotto et al., 2014; Zhao et al., 2014; Valadares et al., 2020).

Параллельно с экспрессией генов ОССП происходит активация защитных механизмов растения. Наличие гриба-микоризообразователя вызывает различные иммунные ответы растения, однако большинство из них подавляется. В первую очередь, повышается экспрессия генов пероксидаз (глутатионпероксидазы и аскорбатпероксидазы), отвечающих за устранение активных форм кислорода (Zhao et al., 2014). Вслед за регуляцией окислительного взрыва активируются механизмы регуляции долгосрочного иммунитета. Салицилат-опосредованный иммунитет предположительно подавляется при формировании микоризы, а микогетеротрофные орхидные, как показано на примере *Gastrodia elata*, способны полностью утрачивать гены, регулирующие этот путь (Xu Y. et al., 2021). При инокуляции орхидных ОМ грибами *in vitro* повышается экспрессия генов жасмонат-опосредованного иммунного ответа (Zhao et al., 2014; Chen et al., 2020). Это свидетельствует о том, что микоризные грибы способны активировать жасмонатный ответ, что обеспечивает более эффективную защиту растений от некротрофных патогенов, насекомых, нематод и других беспозвоночных. У орхидеи *Dactylorhiza maculata in vivo* накопление флавоноидов интенсивнее в микоризованных корнях (Маракаев и др., 2007). Установлено, что многие растительные флавоноиды и их производные обладают противогрибной активностью. Это указывает на то, что при помощи флавоноидов растение

может регулировать рост ОМ гриба внутри клеток, а также объясняет лечебные свойства многих орхидных.

Таким образом, при формировании ОМ микобионт не распознается растением как патоген, но происходит активация механизмов защиты, направленных на повышение стрессоустойчивости по отношению к абиотическим и биотическим факторам, вызывая всестороннюю стимуляцию устойчивости растения. Каскад сигналов ОССП в итоге приводит к формированию внутриклеточных гифальных структур для обмена питательными веществами, а также к экспрессии генов переносчиков аминокислот, фосфатов и неорганических веществ. Экспрессия этих генов свидетельствует о более сложном и тесном взаимодействии орхидных с микобионтами, чем показано прямыми методами, а обмен веществами происходит не только путем лизиса пелотонов, но и регулируемым путем через общую симбиотическую мембрану.

1.7 Орхидная микориза в контексте практического применения

Интерес к изучению орхидной микоризы возрастает благодаря широкому применению орхидных в качестве лекарственных и декоративных растений. Орхидные издавна используются в традиционной медицине Китая, Юго-Восточной Азии и Северной Америки, и в настоящее время предпринимаются попытки объяснения медицинских свойств орхидных и выявления веществ, обуславливающих эти свойства (Da Silva et al., 2015; Teoh, 2019).

Так, было показано, что особи *Anoectochilus formosanus*, инокулированные симбиотическим грибом *Rhizoctonia* sp., обладают более высоким содержанием флавоноидов, алкалоидов и полифенолов, а также более высокой фосфатазной и супероксиддисмутазной активностью по сравнению с неинокулированными растениями, что является свидетельством повышения лекарственных свойств растения при наличии микоризного гриба (Chou, 2004). Также было показано, что рост декоративных орхидей *Phalaenopsis amabilis* и *Doritaenopsis* sp. ускоряется при инокуляции симбиотическими грибами *Rhizoctonia* spp. (Chang, 2006).

Более того, существуют данные, свидетельствующие о повышении декоративных качеств орхидных при совместном культивировании с грибом. Так, орхидея *Doritaenopsis* сорта *Minho Princess* образует большее число более ярких цветков при инокуляции грибом *Rhizoctonia* sp. (Lan, 2001). Совместное выращивание орхидных с микобионтами дает эффективные результаты в лабораторных условиях, однако сильное влияние изолята микобионта и состава среды на степень стимуляции роста орхидеи пока не позволяет выработать универсальную методику для широкого практического применения (Freestone et al., 2022). Таким образом, изучение различных аспектов орхидной микоризы не только углубляет

представление об эволюции и физиологии этого уникального симбиоза, но и дает возможность применения этих знаний на практике.

1.8 Подходы к изучению орхидной микоризы

Методология исследований микоризного симбиоза совершенствуется с появлением новых научных подходов. Изучение проводится как традиционными, так и современными методами.

Биоразнообразие грибов-микоризообразователей, ассоциированных с корнями определенных видов растений, изучается культуральными и генетическими методами. Выделение грибов, ассоциированных с корнями, в чистую культуру осуществляется путем поверхностной стерилизации участков корня и помещения их на чашки Петри с питательной средой (например, Gong et al., 2018). Грибы, выделенные этим методом, могут рассматриваться как ассоциированные с корнем, однако для точного определения их экологической роли как микоризообразователей, эндофитов, патогенов или сапротрофов требуются дополнительные эксперименты. Например, анализ на фитогормоны показывает, способен ли определенный изолят гриба влиять на функционирование растения, и положительный результат теста указывает на симбиотическую роль гриба, но этот подход используется для установления роли изолята как потенциального эндофита, и не применим для микобионтов (Shah et al., 2019). Для подтверждения экологической роли грибов-микоризообразователей может быть использован метод совместного культивирования *in vitro*. Этот подход заключается в искусственной инокуляции растения-хозяина культурой гриба с последующим наблюдением за изменениями физиологии растения: влажной и сухой биомассы, эффективности фотосинтеза и наличия структур микоризы. Такой подход кажется надежным методом установления грибов-микоризообразователей, однако экспериментальные данные свидетельствуют о том, что *in vitro* микоризу способны формировать виды грибов, для которых это никогда не было показано в природе (Jiang et al., 2019). Таким образом, этот подход требует дальнейшей проработки и совершенствования.

Для избежания проведения дополнительных экспериментов, экологическая роль определенного гриба может быть предположена исходя из известных литературных данных об экологии этого вида (Voronina et al., 2018). Для ОМ гриб-микоризообразователь может быть культивирован путем изоляции отдельного пелотона (Zhu et al., 2008).

Качественно иной подход к исследованию биоразнообразия грибов, ассоциированных с орхидными, по сравнению с методом чистых культур, заключается в использовании метагеномного анализа методом высокопроизводительного секвенирования.

Микробиологическое профилирование по определенному участку ДНК, или метабаркодинг, широко применяется при изучении микробных ассоциаций и позволяет получить цельную картину биоразнообразия грибов, а также выявить скрытое биоразнообразие микроорганизмов, не поддающихся культивированию. Данный подход используется, в частности, для выявления экологической приуроченности ассоциированных грибов (Waud et al., 2016). Главный недостаток метагеномного подхода в том, что косвенным методом невозможно точно установить количественный состав микробиоты конкретного местообитания. В связи с этим, для получения более полных данных метагеномный подход комбинируют либо с методом чистых культур, либо с другими методами, основанными на высокопроизводительном секвенировании: транскриптомикой и метаболомикой (Aguilar-Pulido et al., 2016).

С целью установления типа питания орхидных используется метод стабильных изотопов. Микогетеротрофные и миксотрофные растения обладают более высоким содержанием изотопов ^{13}C и ^{15}N по сравнению с автотрофами из-за их накопления в гифах гриба (Schiebold et al., 2018). Метод стабильных изотопов позволяет выявить растения с неавтотрофным типом питания и широко применяется в сочетании с методами изучения биоразнообразия ассоциированной микробиоты для получения полной картины функционирования симбиотической системы (Eskov et al., 2020).

Процесс формирования ОМ чаще всего изучают *in vitro* путем совместного культивирования орхидеи с микобионтом на питательной среде. Такой подход позволяет исключить биотические и абиотические факторы, влияющие на процесс формирования ОМ, однако отдаляет систему от природного состояния. Многие виды орхидных способны прорасти из семян без инокуляции микобионтом, что широко используется с целью культивирования декоративных орхидных, в частности таких родов как *Phalaenopsis* и *Dendrobium* (Teixeira da Silva et al., 2015a; Cardoso et al., 2020).

2. Материалы и методы

2.1 Объекты исследования

Изучение анатомии микоризы эпифитных орхидных проведено на образцах корней орхидных подсемейства *Epidendroideae*: *Dendrobium* sp., *Gastrochilus* sp., *Thrixspermum* sp. и *Epidendroideae* gen. sp. Биоразнообразие микобионтов орхидной микоризы изучено методом выделения чистых культур на образцах корней тропических наземных орхидных, имеющих схожее местообитание и сезон вегетации: *Eulophia graminea*, *Spiranthes hongkongensis* и *Zeuxine strateumatica*, а также корней бореальной наземной орхидеи *Goodyera repens*, отобранных в различающихся местообитаниях. Разнообразие микобионтов в корнях *G. repens* изучено также методом метагеномного анализа. Для определения антибиотической активности также использованы культуры, выделенные из *Paphiopedilum purpuratum*, культивируемого в оранжерее Национального Центра Охраны Орхидей (Шэньчжэнь, Китай). Описание объектов и методы исследования приведены в табл. 1.

Таблица 1. Объекты и методы исследования

Вид	Место сбора	Местообитание	Методы исследования
<i>Goodyera repens</i>	Россия	Хвойные леса	Культуры, метагеном
<i>Zeuxine strateumatica</i>	Китай, Шэньчжэнь	Пустырь	Культуры
<i>Spiranthes hongkongensis</i>			
<i>Eulophia graminea</i>		Оранжерея	
<i>Paphiopedilum purpuratum</i>			
<i>Dendrobium</i> sp.	Вьетнам, Кат-Тьен	Ветвь <i>Muraia</i> sp.	Конфокальная и флуоресцентная микроскопия
<i>Gastrochilus</i> sp.		Ветвь форофита	
<i>Thrixspermum</i> sp.			
<i>Epidendroideae</i> gen. sp.			

2.2 Характеристика изучаемых местообитаний

Биоразнообразие ассоциированной микобиоты изучено на примере орхидных, собранных в трех регионах России: Ленинградская область, Московская область, республика Карачаево-Черкесия, а также на территории кампуса Университета МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Китай. Характеристика местообитаний приведена в табл. 2.

Таблица 2. Характеристика точек и регионов сбора материала. Zs – *Z. strateumatica*, Eg – *E. graminea*, Sh – *S. hongkongensis*.

Даты сбора	20.08.2022		10.11.2021, 23.08.2022			31.07.2022					
Местообитание	Во мху, под елью	Под мертвой сосной	Под сосной			На разложившейся древесине	На основном вывороте	Под сосной	На валуне	Под пихтой	Под елью
Тип почвы	Подзолистая		Дерново-подзолистая			Бурая горно-лесная					
Тип сообщества	Сосняк с елью		Сосняк с елью			Сосняк с пихтой		Пихтарник с елью			
Фенологическая фаза	Вегетация					Вегетация	Цветение	Вегетация		Цветение	Вегетация
Координаты	60.800425, 28.941970	60.801061, 28.950757	55.691680, 36.715776	55.691485, 36.714948	55.694775, 36.739656	43.441397, 41.711269	43.447487, 41.694842	43.439822, 41.710351	43.438488, 41.714561	43.260450, 41.427480	43.438966, 41.718041
Точка	Л1	Л2	М1	М2	М3	К1	К2	К3	К4	К5	К6
Место сбора	Ленинградская область		ЗБС МГУ			Тебердинский заповедник					

Таблица 2 (продолжение).

Даты сбора	04.03.2021		30.04.2021									
Местообитание	Пустырь	Под <i>Rhoenix</i> sp.	Под <i>Ficus</i> sp.	Под <i>Lagerstroemia</i> sp.	Под <i>Lagerstroemia</i> sp.	Пустырь	Пустырь	Пустырь	Пустырь	Под <i>Ficus</i> sp.	Пустырь	
Тип почвы	Красная											
Тип сообщества	Антропогенный газон											
Фенологическая фаза	Цветение							Цветение	Плодоношение			
Координаты	22.681, 114.197											
Точка	Zs1-Zs6	Eg1	Eg2	Eg3	Eg4	Eg5	Eg6	Sh1	Sh2	Sh3		
Место сбора	Шэньчжэнь, Китай											

Точки сбора в Московской области находились в сосняке с елью на дерново-подзолистой почве. Точки в Карачаево-Черкесии находились в сосняке с пихтой и пихтарнике на бурых горно-лесных почвах. Точки в Ленинградской области находились в сосняке с елью в подзолистой почве (Рожков и др., 2010). Девять из одиннадцати куртин *G. repens* располагались в доступности корней хвойных эктомикоризообразующих деревьев: сосны, ели или пихты.

Точка Л2 располагалась под мертвой сосной, точка К4 – на валуне без доступа к древесным корням.

Точки сбора в Шэньчжэне характеризовались антропогенно преобразованной красноземной почвой с преобладанием травянистых растений *Euphorbia* spp. и злаков. Места произрастания орхидных располагались на пустыре либо вблизи искусственно высаженных деревьев: *Ficus* sp, *Phoenix* sp., *Lagerstroemia* sp.

2.3 Сбор материала

Образцы корней эпифитных орхидных для изучения анатомии микоризы собраны в национальном парке Кат-Тьен (Вьетнам) в октябре 2015 года и идентифицированы Аленом Кямаловичем Еськовым. Участки субстратных и воздушных корней были отделены от растения и помещены в емкости с 70% этиловым спиртом, где хранились до востребования.

Образцы корней наземных тропических орхидных собраны в г. Шэньчжэнь (Китай). Корни *E. graminea*, *S. hongkongensis* и *Z. strateumatica* собраны на месте произрастания на территории Совместного Университета МГУ-ППИ в период цветения в марте (*Z. strateumatica*) и апреле (*E. graminea* и *S. hongkongensis*) 2021 г. Идентификация растений проводилась на месте сбора. Для выделения чистых культур участки корней были отделены от растений, помещены в бумажные пакеты и сохранены при +4°C в течение не более чем 7 суток для предотвращения роста грибов и бактерий.

Образцы корней *G. repens* были собраны на территории Звенигородской биостанции МГУ (ЗБС МГУ, Московская область), в окрестностях озера Большое Лесное Выборгского района Ленинградской области и Тебердинского национального парка (Карачаево-Черкесская Республика) (см. рис. 1, 2).

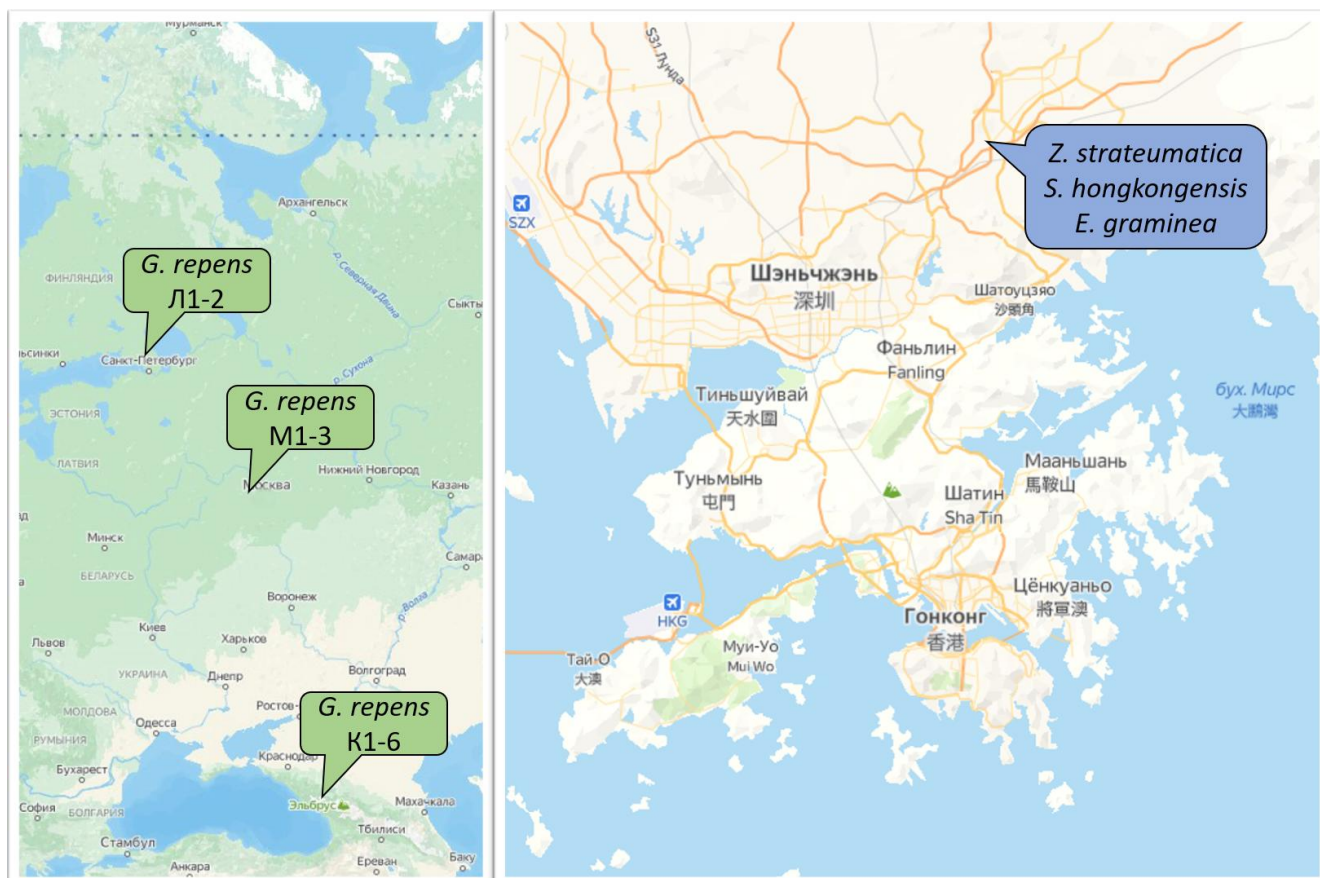


Рисунок 1. Места сбора исследуемых видов орхидных



Рисунок 2. Точки сбора *G. repens*. Л – Ленинградская область, М – Московская область, К – Карачаево-Черкесия

В точках сбора были извлечены и помещены в контейнеры участки почвы с побегами размером ориентировочно 10*10*10 см. Затем из образцов были извлечены корни *G. repens* и свободная почва. Материал для метагеномного анализа был помещен в пробирки с абсолютным этанолом для предотвращения роста микробиоты и сохранения ДНК. Материал для выделения чистых культур был сохранен при +4°C в бумажных пакетах до востребования.

2.4 Микроскопия

2.4.1 Конфокальная микроскопия

Продольные и поперечные срезы субстратных и воздушных корней тропических эпифитных орхидных, сделанные вручную при помощи бритвенного лезвия, окрашены 0,01% водным раствором берберина (Sigma-Aldrich) для лучшего контрастирования и исследованы под конфокальным микроскопом Olympus FV-1000 с комбинацией лазеров 405 нм и 473 нм. Съемка проводилась под 10-, 20- и 40-кратными объективами по методике, описанной в Ignatov et al., 2021.

2.4.2 Световая и флуоресцентная микроскопия

Продольные и поперечные срезы были подготовлены тем же методом. Анатомия структур микоризы наблюдалась с использованием светового микроскопа Leica ICC50 (Leica, Германия) на светлом поле и флуоресцентного микроскопа Axioskop 40 FL, оснащенного камерой AxioCam (Carl Zeiss, Германия) и флуоресцентным фильтром с максимумом возбуждения 365 нм. Съемка проводилась под 4- и 10-кратными объективами.

Метод флуоресцентной микроскопии также был использован для визуализации ядер в культурах грибов семейства *Ceratobasidiaceae*. Культуры были инкубированы в течение 7 суток при 26°C на чашках Петри со средой сусло-агар, покрытой стерильной целлофановой пленкой, после чего фрагмент мицелия помещался на покровное стекло и окрашивался 0,01 мкг/мл раствором DAPI в течение 1 минуты. Наблюдение проводилось при тех же параметрах.

2.4.3 Электронная микроскопия

Методы трансмиссионной (ТЭМ) и сканирующей (СЭМ) электронной микроскопии использованы для выявления ультраструктур изолятов *Ceratobasidium*. Культуры инкубировались на чашках Петри со средой сусло-агар в течение 7 дней, после чего мицелий был зафиксирован в глутаровом альдегиде.

Для ТЭМ мицелий был дополнительно фиксирован в тетроксиде осмия, обезвожен в этаноле и погружен в смолу Epon-812 (Sigma-Aldrich, Германия). Срезы получены с помощью

ультратома LKB-4800 (LKB-Produkter, Швеция), высушены уранилацетатом и цитратом свинца и исследованы под трансмиссионным электронным микроскопом JEM-1011 (JEOL Inc, США).

Для СЭМ мицелий обезвожен в этаноле, высушен в сушке в критической точке HCP-2 (Hitachi, Япония), покрыт слоем металла в напылителе Eico IB-3 (Eico, Япония) и исследован под сканирующим электронным микроскопом JSM-6380 (JEOL Inc, США).

2.5 Выделение чистых культур грибов

Для выделения чистых культур грибов использованы питательные среды сусло-агар и картофельно-декстрозный агар с добавлением 0,01% амоксициллина для предотвращения роста бактерий (см. табл. 3). Среда была автоклавирована в течение 40 мин при 1 атм и 125°C и распределена по чашкам Петри в ламинарном боксе над спиртовой горелкой.

Таблица 3. Состав питательных сред для культивирования грибов

Картофельно-декстрозный агар		Сусло-агар	
Картофельный отвар	300 мл	Солодовый экстракт	10 г
Глюкоза	20 г	Агар	20 г
Агар	20 г	Амоксициллин	0,1 г
Амоксициллин	0,1 г	Дистиллированная вода	1 л
Дистиллированная вода	700 мл		

Корни были разделены на фрагменты длиной 0,5–1 см, тщательно промыты, очищены от почвы и поверхностно стерилизованы путем последовательного погружения в 70% этанол (60 сек), моющее средство Fairy (30 сек), 0,1% раствор амоксициллина (60 сек) и стерильную дистиллированную воду (промывка). Вслед за стерилизацией корни были перенесены на питательную среду.

Из образцов свободной почвы готовились суспензии с 1000- и 10000-кратным разведением в стерильной дистиллированной воде. При помощи пипетки 0,5 мл суспензии переносились на питательную среду и распределялись стерильным шпателем.

Чашки Петри помещались в термостат при 26°C на 7 суток. По истечении 7 суток проводилось визуальное выделение морфотипов грибов и их отсев на чистые чашки Петри.

2.6 Идентификация культур грибов

Таксономическая идентификация грибов осуществлялась либо по морфологическим признакам, либо по последовательности ITS. Для морфологической идентификации использовались определители «Compendium of soil fungi» (Domsch et al., 1980), «A manual of

penicillia» (Raper and Thom, 1949), «Аспергиллы» (Билай, Коваль, 1988) и «Определитель мукоральных грибов» (Милько, 1974).

Для получения последовательности ITS культур, выделенных из *G. repens*, проводилось выделение ДНК из культур гриба. Мицелий, замороженный в жидком азоте, измельчался, перемещался в пробирку с 700 мкл СТАВ-буфера. Пробирки перемешивались и инкубировались в течение 1 ч с перемешиванием каждые 20 мин. Затем добавлялись 500 мкл хлороформа, и пробирки центрифугировались 10 мин при 13400 об/мин. После центрифугирования 700 мкл супернатанта отбирались в чистые пробирки с 400 мкл изопропанола и 70 мкл ацетата калия, и пробирки центрифугировались в течение 10 мин при 13400 об/мин. Осадок, оставшийся после центрифугирования, дважды промывался 70% этанолом и центрифугировался 5 мин при 13400 об/мин. Осадок высушивался и ресуспендировался в 50 мкл деионизированной воды.

ПЦР-реакция проведена с использованием праймеров ITS1 и ITS4, эффективность ПЦР подтверждена электрофорезом в агарозном геле. Секвенирование по Сэнгеру проводилось в компании Евроген (Россия) в соответствии с методикой фирмы.

Для получения последовательностей ITS грибов, выделенных из тропических орхидных, культуры были переданы на выделение ДНК и секвенирование в BGI Group (Шэньчжэнь, Китай) в соответствии с методикой фирмы.

2.7 Метагеномный анализ

Корни, отобранные для метагеномного анализа, были очищены от почвы и подвергнуты поверхностной стерилизации способом, описанным в разделе 2.5. Образцы почвы и корней были измельчены в ступке и хранились в абсолютном этаноле до проведения анализа.

Выделение ДНК и метагеномный анализ по участку ITS2 проведены в компании БиоСпарк (Троицк, Московская область) в соответствии с методикой фирмы. Геномная ДНК выделена из образцов с использованием набора FastDNA SPIN Kit for soil (MP). Для секвенирования использованы праймеры NR_5.8SR (прямой) и NR ITS4R (обратный) (см. табл. 4). Амплификация проведена в амплификаторе в реальном времени CFX96 Touch (Bio-Rad).

Таблица 4. Последовательности праймеров для секвенирования участка ITS2 при проведении метагеномного анализа

Праймер	Последовательность
NR_5.8SR	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGATCTCGATGAAGAACGCAGCG
NR ITS4R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGCATCCTCCGCTTATTGATATGC

Подготовленные библиотеки проанализированы методом высокопроизводительного секвенирования на секвенаторе нового поколения Illumina MiSeq (Illumina) с генерацией не менее 5000 прочтений на образец. Полученные прочтения обработаны с использованием алгоритма QIIME 1.9.1.

2.8 Получение экстрактов культур грибов

Изоляты грибов были культивированы в колбах, содержащих 100 мл картофельно-декстрозной среды (см. табл. 3) без добавления агара в течение 14 суток при 130 об/мин. Подготовка питательной среды осуществлена методом, описанным в разделе 2.5 главы «Материалы и методы».

В колбы, содержащие биомассу гриба, добавлялись 100 мл этилацетата и тщательно перемешивались, после чего фракция этилацетата переносилась в круглодонную колбу. Колба присоединялась к роторному испарителю при 40°C и вращалась до практически полного испарения этилацетата. Процедура повторялась минимум трижды для получения значительного объема экстракта. Емкости с экстрактами оставляли открытыми при комнатной температуре на 2–3 суток до полного испарения растворителя.

2.9 Изучение антимикробной активности культур грибов

Биологическая активность изолятов изучена методом диффузии в агар с использованием фрагментов мицелия на агаризованной среде, культуральной жидкости и экстрактов культур.

В качестве тест-культур для проверки активности мицелия и культуральной жидкости использованы бактерии *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633 и грибы *Candida albicans* ATCC 2091 и *Aspergillus niger* INA 00760. Для проверки активности экстрактов использованы штаммы бактерий *B. subtilis* RKMUz 5, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *E. coli* RKMUz 221 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27879 и гриб *C. albicans* RKMUz 247.

В качестве положительного контроля использованы диски, пропитанные растворами антибиотиков: ампициллин (10 мкг/диск) для тест-культур грамотрицательных бактерий, гентамицин (10 мкг/диск) для грамположительных бактерий и флуконазол (25 мкг/диск) для грибов.

Активность культур на твердой среде изучена методом блоков. Из культур, культивированных на среде сусло-агар в течение 7 суток, при помощи пробойника вырезались блоки диаметром 0,8 см, помещались на среду с суспензией тест-культур, и чашки помещались в термостат при 30°C для бактерий и 26°C для грибов.

Активность культуральной жидкости изучена у наиболее активных штаммов. Культуральная жидкость была получена путем культивирования грибов в жидкой среде сусло-агар в течение 7 суток, после чего 20 мкл культуральной жидкости нанесены на бумажный диск. Бумажный диск помещался на среду с суспензией тест-культур.

Для изучения активности экстрактов культур кристаллизованные экстракты были растворены в 110 мкл метанола, после чего по 20 мкл нанесено на стерильные бумажные диски. После испарения метанола диски были помещены на среду с суспензией тест-культур, и чашки Петри культивированы при тех же условиях.

Диаметр зон подавления измерялся при проявлении роста тест-культур. Для бактерий этот срок составлял 1 сутки, для грибов – 2–3 суток. Результаты ранжировались следующим образом: 0 мм – активность не наблюдается; 1–6 мм – слабая активность, 6–14 мм – заметная активность, 14–20 мм – выраженная активность, ≥ 20 мм – высокая активность

2.10 Анализ патогенности изолятов

Патогенность изолятов проанализирована на ломтиках клубня картофеля. Здоровые клубни были вымыты, простерилизованы 0,5% раствором гипохлорита натрия в течение 15 минут, почищены, нарезаны стерильным лезвием и помещены в стерильные влажные камеры. Агаровые блоки с активно растущим мицелием помещались на центр ломтика. Инкубацию проводили при охлаждении до 12°C в течение 7 суток, а затем влажные камеры перемещали на 7 суток при 24°C (Mertely, Legard, 2004, с изменениями). Эксперимент проводили в трех повторностях для каждого изолята.

2.11 Обработка и обсчет данных

Для первичной обработки данных использована программа MS Excel. В качестве погрешностей во всех случаях использовано стандартное отклонение. Для работы с последовательностями использована программа MEGA-X (Kumar et al., 2018). Для идентификации последовательностей участка ITS был использован алгоритм BLAST баз данных GenBank (Clark et al., 2016) и UNITE (Nilsson et al., 2018), принадлежность последовательности к референтной группе предполагалась исходя из сходства не менее 97%. Актуальные названия таксонов приведены в соответствии с базой данных MycoBank.

Для выравнивания последовательностей использован алгоритм MAFFT v. 7 (RIMD, Katoh et al., 2019) и программа MEGA-X. Топография филогенетических деревьев рассчитана при помощи онлайн-сервиса IQ-TREE (Trifinopoulos et al., 2016). Кладограммы визуализированы в программе FigTree v. 1.4.4 (Rambaut, 2018). Для предписания экологических

групп выявленным ОТЕ использована база данных FUNGuild (Nguyen et al., 2016). Анализ PERMANOVA, расчет индексов Шеннона и Пиелу и коэффициентов Спирмена и Пирсона проведены с использованием расширения `vegan` в программе RStudio.

3. Результаты и обсуждение

3.1 Микоризный статус изучаемых орхидных

Биоразнообразие грибов, ассоциированных с корнями орхидных, изучено методом чистых культур и метагеномным методом (см. табл. 1). Методом чистых культур были изучены корни шести растений *Zeuxine strateumatica*, шести растений *Eulophia graminea*, трех растений *Spiranthes hongkongensis* и 11 куртин *Goodyera repens*.

Для подтверждения наличия ОМ срезы корней исследуемых видов орхидных проанализированы методами световой микроскопии. Все исследованные корни вне зависимости от места произрастания и наличия вблизи деревьев содержали пелотоны, что подтверждает микоризный статус растений (см. рис. 3).

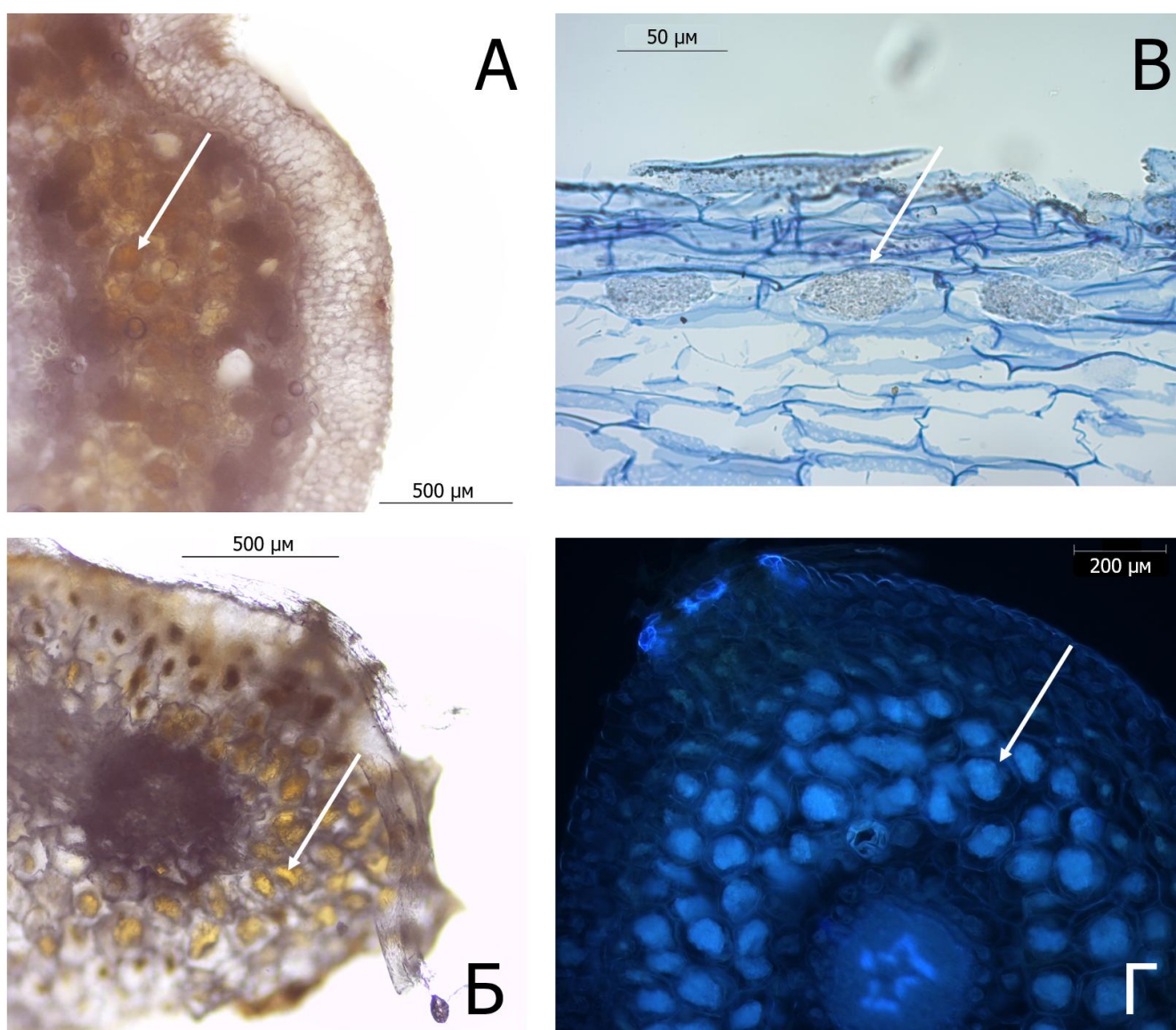


Рисунок 3. Фрагменты срезов колонизированных корней орхидных. А – *E. graminea*, Б – *S. hongkongensis*, В – *Z. strateumatica*, Г – *G. repens*. Стрелки указывают на пелотоны

3.2 Микобиота корней наземных орхидных города Шэньчжэнь

На антропогенном газоне территории Университета МГУ-ППИ в Шэньчжэне в период март-апрель 2021 г. были собраны корни трех видов наземных орхидных: *Zeuxine strateumatica*, *Spiranthes hongkongensis* и *Eulophia graminea*.

Z. strateumatica (подсемейство Orchidoideae, триба Cranichidae) крайне малоизучена в контексте микоризного симбиоза. Этот вид является нативным для юго-восточной Азии, однако был интродуцирован на территорию юго-востока США и распространился вплоть до Бразилии (Neto et al., 2011). Инвазивные свойства *Z. strateumatica*, вероятно обусловлены формированием микоризы с представителями семейства Ceratobasidiaceae (Porter, 1942), а также способностью к апомиксису (Kant, Verma, 2012).

S. hongkongensis (подсемейство Orchidoideae, триба Cranichidae) – наземный вид, дивергенция которого от близкородственного *S. sinensis* произошла в результате тетраплоидизации. *S. hongkongensis* населяет открытые пространства юго-восточного Китая и способен заселять антропогенные местообитания (Sun, 1996).

E. graminea (подсемейство Epidendroideae, триба Cymbidiae) – наземная орхидея, произрастающая в тропических и субтропических регионах юго-восточной Азии, образующая псевдобульбы и склонная к ассоциации с широким спектром микобионтов. Генерализм *E. graminea* позволяет этому виду произрастать в нарушенных местообитаниях, а также делает его высоко инвазивным (Downing et al., 2020).

Собраны растения на стадиях вегетации, цветения и плодоношения (см. рис. 4). Из-за схожести сезона вегетации и местообитания культуры, выделенные из этих растений, рассмотрены совместно.



Рисунок 4. Орхидные на месте сбора. А – *E. graminea*, Б – *S. hongkongensis*, В – *Z. strateumatica*

В чистую культуру выделены 76 изолятов, относящиеся к 19 видам, принадлежащим к отделам Ascomycota (классы Sordariomycetes, Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Leotiomycetes) и Basidiomycota (класс Agaricomycetes) (см. табл. 5).

Таблица 5. Таксономическая принадлежность культур грибов, выделенных из корней *Z. strateumatica* (Zs), *S. hongkongensis* (Sh) и *E. graminea* (Eg)

Вид	Растение-хозяин	Референс	Экология	Источники
<i>Chaetomium cochliodes</i>	Eg**	MN856207.1	Фитопатоген, эндифит	Ma et al., 2013, Koriolov et al., 2021
<i>Fusarium oxysporum</i>	Zs, Sh, Eg	MN533762.1	Фитопатоген, эндифит	Husaini et al., 2018, Vu et al., 2006
<i>Neorestalotioropsis clavisorga</i>	Eg**	MT556387.1	Фитопатоген	Chamoto et al., 2016; Ratta et al., 2020
<i>Nigrospora sphaerica</i>	Sh	MT561433.1	Фитопатоген, эндифит	Mashiane et al., 2017; Zainudin et al., 2021
<i>Nigrospora</i> sp.	Sh, Eg	MN180848.1		
<i>Nigrospora oryzae</i>	Sh	HQ608090.1	Фитопатоген, эндифит	Abbas et al., 2020; Fang et al., 2012
<i>Alternaria alternata</i>	Sh	MT487794.1		
<i>Alternaria tenuissima</i>	Zs	НД*	Фитопатоген, эндифит	Xing, Guo, 2011 Tashiro, 2011
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eg**	KT240141.1	Фитопатоген, эндифит	Abdel-Fatah et al., 2021; Mutiga et al., 2023; Zhang W. et al., 2017
<i>Curvularia lunata</i>	Zs, Sh, Eg	KR815445.1	Фитопатоген, эндифит	Buatong, 2020; Udayanga et al., 2015; Zainudin et al., 2021
<i>Diaporthe</i> sp.	Zs	NM012815.1	Фитопатоген, эндифит	
<i>Diaporthe phaseolorum</i>	Zs	MT043800.1	Фитопатоген, эндифит	
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Eg**	MK696010.1	Фитопатоген, эндифит	Xu W. et al., 2021, Chen S. P. et al., 2017
<i>Pitheomyces suldonitis</i>	Eg	MG250462.1	Эндифит	Орретман, Вебнер, 1994
<i>Aspergillus aculeatus</i>	Eg**	MN187974.1	Сапрофит, эндифит,	Teh, Latiffah, 2015
<i>Talaromyces pinophilus</i>	Eg, Sh	MF806019.1	фитопатоген	Abdel-Rahim et al., 2018 El-Shahir et al., 2021
<i>Scytalidium circinatum</i>	Zs	MK304049.1	Сапрофит, эндифит	Ni., 2018, Fang, 2019; Glupou., 2018
<i>Ceratobasidium</i> sp1	Zs	MT874891.1	Микоризообразователь	Смит, Рид, 2012
<i>Ceratobasidium</i> sp2	Sh	AF354093.1		

*НД – нет данных. Определение проводилось по морфологическим признакам.

** – культуры выделены из корней с признаками патогенеза.

Отдел Ascomycota в изученных образцах представлен 17 изолятами, относящимися к 4 классам: Sordariomycetes, Dothideomycetes, Eurotiomycetes, и Leotiomycetes. К классу Sordariomycetes относятся 6 выделенных изолятов родов *Chaetomium*, *Fusarium*, *Neopestalotiopsis* и *Nigrospora*. Класс Dothideomycetes представлен 8 изолятами, относящимися к порядкам родам *Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Diaporthe*, *Lasiodiplodia* и *Pithomyces*. Одна выявленная культура относится к классу Leotiomycetes – *Scytalidium circinatum* (порядок Helotiales), две культуры родов *Talaromyces* и *Aspergillus* относятся к классу Eurotiomycetes (порядок Eurotiales). Отдел Basidiomycota представлен двумя культурами рода *Ceratobasidium* (порядок Cantharellales, класс Agaricomycetes).

В общей сложности в корнях *Z. strateumatica* выявлено 7 видов грибов, в корнях *S. hongkongensis* – 8 видов, в корнях *E. graminea* без признаков поражения – 4 вида. Из корней *E. graminea* с признаками грибного поражения выделены 6 культур: *Chaetomium cochliodes*, *Neopestalotiopsis clavispora*, *Cladosporium cladosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Talaromyces pinophilus* и *Aspergillus aculeatus*.

Два вида (*F. oxysporum* и *C. lunata*) выявлены из трех растений и один вид обнаружен у *E. graminea* и *S. hongkongensis* (*Nigrospora* sp.). Остальные 16 видов являются специфичными для одного из трех видов орхидных (см. рис. 5).

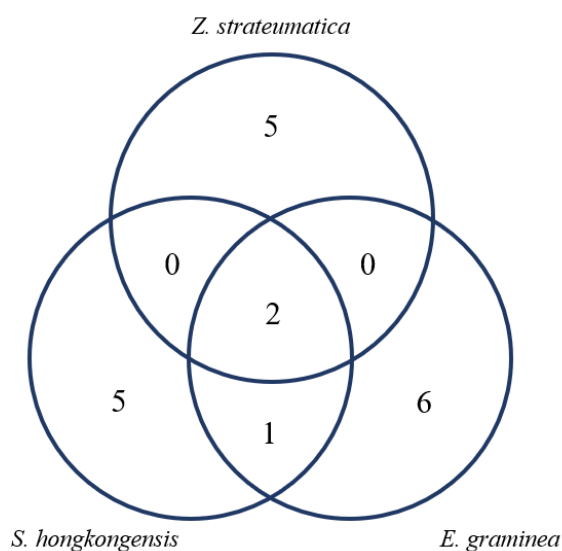


Рисунок 5. Число общих и специфичных видов грибов, ассоциированных с *Z. strateumatica*, *E. graminea* и *S. hongkongensis*

В общей сложности, из 19 выделенных видов, 12 известны как эндофиты, способные вызывать патогенез у различных растений, 3 вида обладают широким экологическим спектром

и выявлялись как сапротрофы, эндофиты и патогены, 2 вида известны как симбионты орхидной микоризы, один вид отмечался как фитопатоген и один вид – как эндофит.

Виды *N. clavispora*, *C. cladosporioides*, *L. theobromae*, и *A. aculeatus*, выявленные в пораженных корнях *E. graminea*, ранее отмечались как фитопатогены, что позволяет предположить, что эта роль сохраняется и в изучаемых образцах. Эти виды также отмечались как патогены орхидных (Lopes et al., 2009; Dos Santos et al., 2012; Cao et al., 2022). Кроме того, вид *L. theobromae* известен как эндофит тропических орхидных и выявляется в корнях эпифитов (Deepthi, Ray, 2021)

Изоляты *C. lunata*, *D. phaseolorum* и виды рода *Nigrospora*, выделенные из незараженных корней, выявлялись ранее как патогены орхидных (Wu et al., 2014; Maketon et al., 2015; Hou et al., 2022), однако присутствие этих видов в незараженных корнях указывает на их способность к бессимптомному эндофитному сосуществованию с растением.

Виды *P. cynodontis*, и *S. circinatum* ранее не указывались как эндофиты орхидных, и их находка является новой в экологическом плане.

Представители вида *Fusarium oxysporum* широко известны как почвенные сапротрофы и фитопатогены (Husaini et al., 2018), а также часто выявляются как эндофиты в тканях растений без признаков патогенеза (Vu et al., 2006). Вид имеет широкий спектр хозяев, в том числе среди представителей семейства Orchidaceae, и разнообразные экологические проявления взаимодействия с ними: от патогенеза (Kim et al., 2002; Srivastava et al., 2018) до образования ОМ *in vitro* (Jiang et al., 2018). Референтные последовательности для *F. oxysporum* известны как в ассоциации с растениями (Gong et al., 2019; Rana et al., 2020), так и в свободной почве (Li et al., 2017). Присутствие изолята этого вида в незараженных корнях всех трех видов орхидных указывает на широкое распространение этого вида на изучаемой территории и большой вклад в функционирование экосистемы.

Выявлено два изолята, относящихся к роду *Ceratobasidium*. Представители этого рода являются микобионтами ОМ и подробно рассмотрены в разделе 3.5.

Таким образом, все 19 выявленных видов отмечались ранее в ассоциации с растениями как эндофиты, патогены или микоризообразователи. Впервые показано присутствие видов *P. cynodontis*, *S. circinatum*, *C. lunata*, *D. phaseolorum*, *N. oryzae* и *N. sphaerica* в корнях орхидных в качестве бессимптомных эндофитов. Виды *F. oxysporum* и *C. lunata* выявлены в корнях всех трех видов орхидных в качестве эндофитов, что свидетельствует о высокой

конкурентоспособности этих изолятов в антропогенной почве. В корнях *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis* выявлены предполагаемые микобионты рода *Ceratobasidium*.

3.3 Корневая микобиота *G. repens*

Образцы корней *G. repens* собраны в августе 2022 года в трех регионах: Московской области (территория Звенигородской биостанции МГУ, далее – Московская область), Ленинградской области (окрестности оз. Большое Лесное, Выборгский район, далее – Ленинградская область) и Карачаево-Черкесии (долина р. Малая Хатипара, Тебердинский заповедник, далее – Карачаево-Черкесия) (см. табл. 1, рис. 6). Состав сообщества грибов, ассоциированных с *G. repens*, исследован методами чистых культур и метабаркодинга по участку ITS2 (Бибиков и др., 2024).

Методом метагеномного анализа выявлено 73424 последовательности, в каждом образце не менее 520 прочтений. Последовательности были сгруппированы в оперативные таксономические единицы (ОТЕ) на основании сходства выше 97%. Всего выявлено 453 ОТЕ грибов, относящиеся к отделам Mucoromycota, Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota и Chytridiomycota. Путем посева корней получены чистые культуры, относящиеся к 25 видам отделов Mucoromycota, Ascomycota и Basidiomycota. В качестве контроля использована почва, взятая из куртин *G. repens*. Таксоны, выявленные только в образцах почвы, приведены в Приложении 1.



Рисунок 6. *G. repens* в местах сбора: А – Карачаево-Черкесия, Б – Московская область, В – Ленинградская область

3.3.1 Общая характеристика ассоциированной микобиоты

Общая характеристика грибного сообщества в исследованных образцах приводится, исходя из данных, полученных методом метабаркодинга. С целью сравнения видового богатства изучаемых местообитаний рассчитаны индексы Шеннона и Пиелу в образцах, объединенных по месту сбора (см. рис. 7).

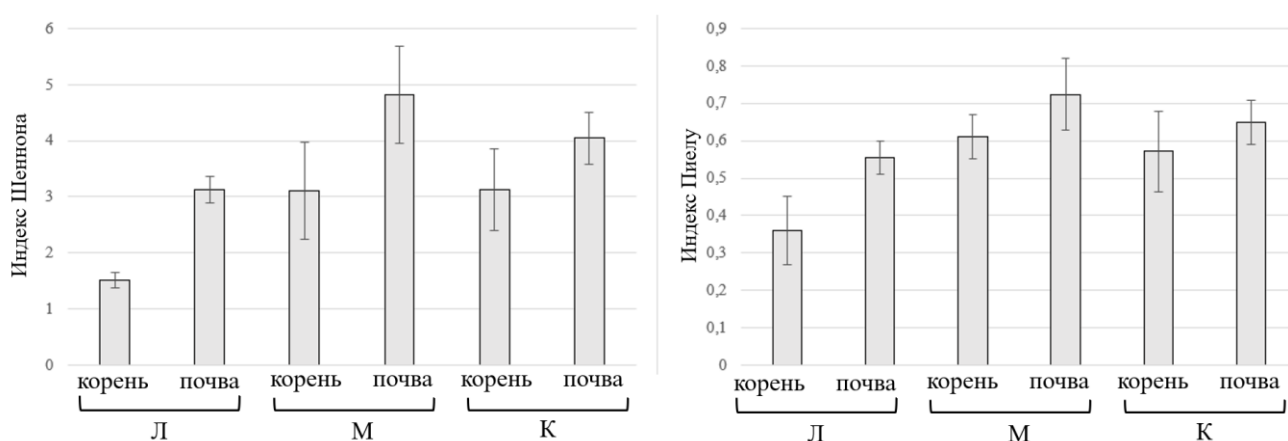


Рисунок 7. Значения индексов Шеннона и Пиелу для изучаемых местообитаний

Во всех образцах почвы биоразнообразие выше, чем в соответствующих образцах корней *G. repens*. Наивысшие значения индексов в образцах почвы получены для Московской области, самые низкие – для Ленинградской области. Значения индексов для образцов корней также ниже в Ленинградской области, чем в Московской области и Карачаево-Черкесии.

Сравнение состава грибных сообществ проведено с использованием статистического анализа PERMANOVA на выборке таксонов грибов, ассоциированных с растениями, а также по составу экологических групп грибов.

При сравнении таксономического состава продемонстрировано значимое различие между регионами ($p = 0,014$). При попарном сравнении выявлено существенное отличие сообщества в корнях *G. repens* из Карачаево-Черкесии от Московской ($p = 0,010$) и Ленинградской ($p = 0,030$) областей. Значимого различия между Московской и Ленинградской областями не выявлено ($p = 0,130$). Таким же способом показано достоверное различие между образцами корней и почвы ($p = 0,01$).

Для предписания экологических групп выявленным ОТЕ использована база данных FUNGuild (Nguyen et al., 2016). При сравнении образцов по распределению экологических

групп выявлено существенное отличие образцов корней *G. repens* от почвы ($p = 0,001$). Вместе с тем, различий в представленности экологических групп в сообществах грибов, ассоциированных с *G. repens* в изученных регионах, выявлено не было ($p = 0,363$). Отличия визуализированы с использованием метода неметрического многомерного шкалирования, оси графика отражают условные координаты точек в двухмерном пространстве (NMDS1, NMDS2) (см. рис. 8).

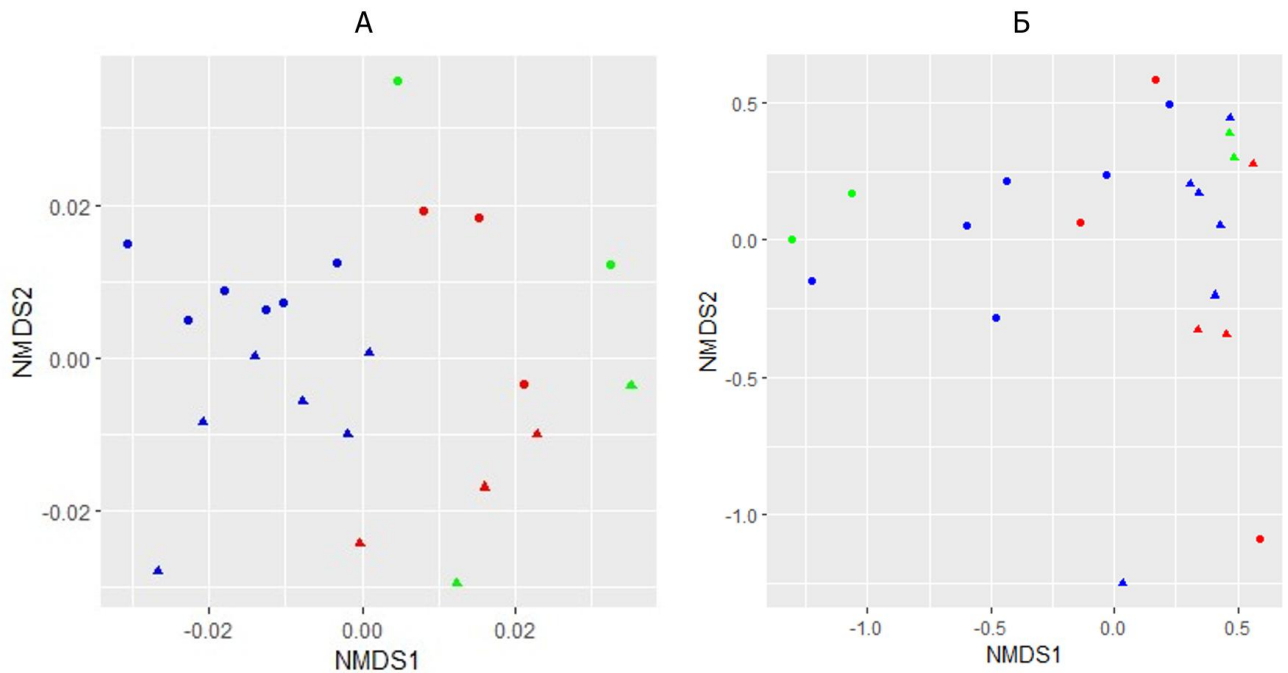


Рисунок 8. Ординация образцов с использованием дистанции Брея-Кертиса А – по таксономическому составу (значение стресса 0,20), Б – по распределению экологических групп (значение стресса 0,08). Зеленые точки – Ленинградская область, красные – Московская область, синие – Карачаево-Черкесия. ● – корни *G. repens*, ▲ – почва.

Различия в таксономическом составе грибного сообщества между образцами корней и почвы (см. рис. 8А) подтверждают имеющиеся данные об уникальном составе микобиоты корней растений и о тяготении грибов-микоризообразователей и эндофитов к эндобиотическому местообитанию (Waud et al., 2016) и позволяет по степени различия показать экологическую приуроченность того или иного вида грибов. Отсутствие различий между Московской и Ленинградской областями свидетельствует о влиянии на структуру сообщества лесобразующих пород: местообитания в обоих регионах представляли собой сосняк с елью, тогда как в Карачаево-Черкесии, образцы откуда показали существенное отличие, основной лесобразующей породой является пихта. Полученные данные показывают региональную специфичность ассоциативной микобиоты *G. repens*.

Различия в составе экологических групп грибов между образцами корней *G. repens* и почвы (см. рис. 8Б) также подтверждают имеющиеся данные (Waud et al., 2016). Отсутствие региональных отличий в составе экологических групп почвенной микобиоты вероятно обуславливается функциональным единообразием грибных сообществ хвойных лесов, включающих в свой состав различные таксоны грибов.

Таким образом, таксономический состав и распределение экологических групп микобиоты корней *G. repens* в каждом регионе уникальны и отличаются от состава почвенной микобиоты. Географический фактор обуславливает различие лишь в таксономическом составе как корневой, так и почвенной микобиоты, в то время как распределение экологических групп остается постоянным вне зависимости от региона.

3.3.2 Структура грибных сообществ корней *G. repens*

Различия корневой и почвенной микобиоты

С целью выявления таксонов и экологических групп, обуславливающих отличия корневой микобиоты от почвенной, был проанализирован таксономический состав и распределение экологических групп грибов в образцах почвы и корней *G. repens* (см. рис. 9,10).

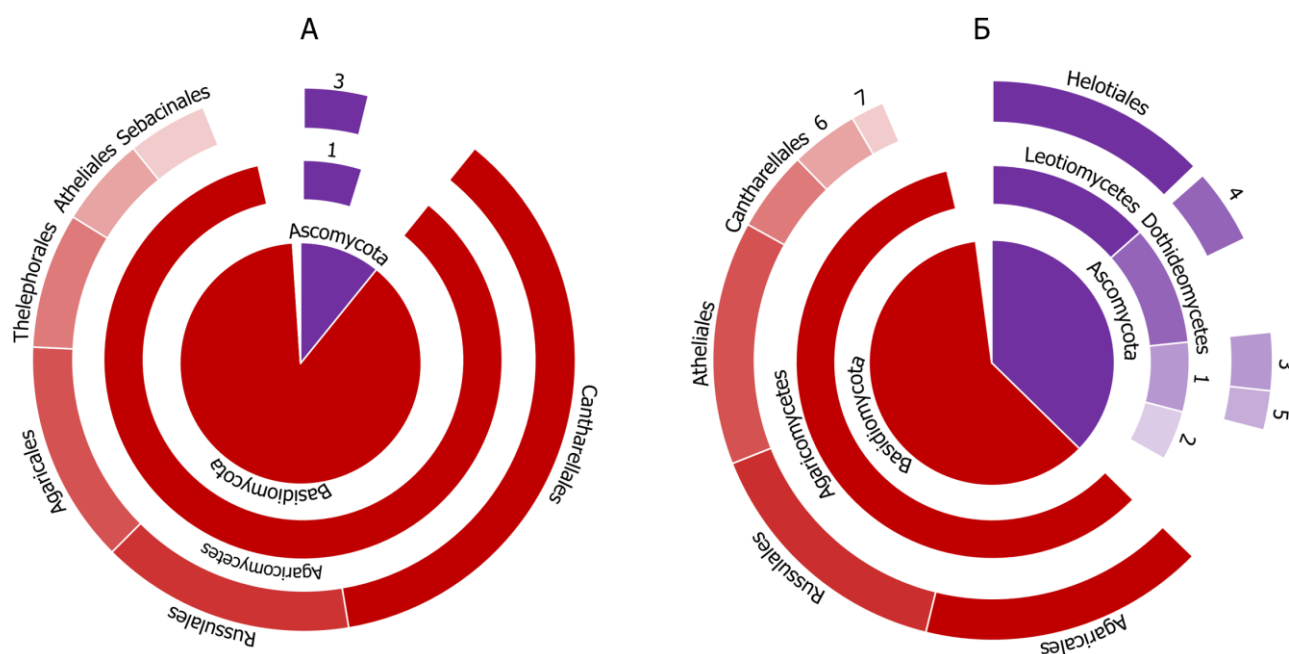


Рисунок 9. Таксономический состав микобиоты корней *G. repens* (А) и почвы (Б) до ранга порядков. Приведены таксоны, представленные более 2% (150 ОТЕ для корней и 250 для почвы). 1 – Eurotiomycetes, 2 – Sordariomycetes, 3 – Chaetothyriales, 4 – Mytilinidiales, 5 – Eurotiales, 6 – Thelephorales, 7 – Trechisporales

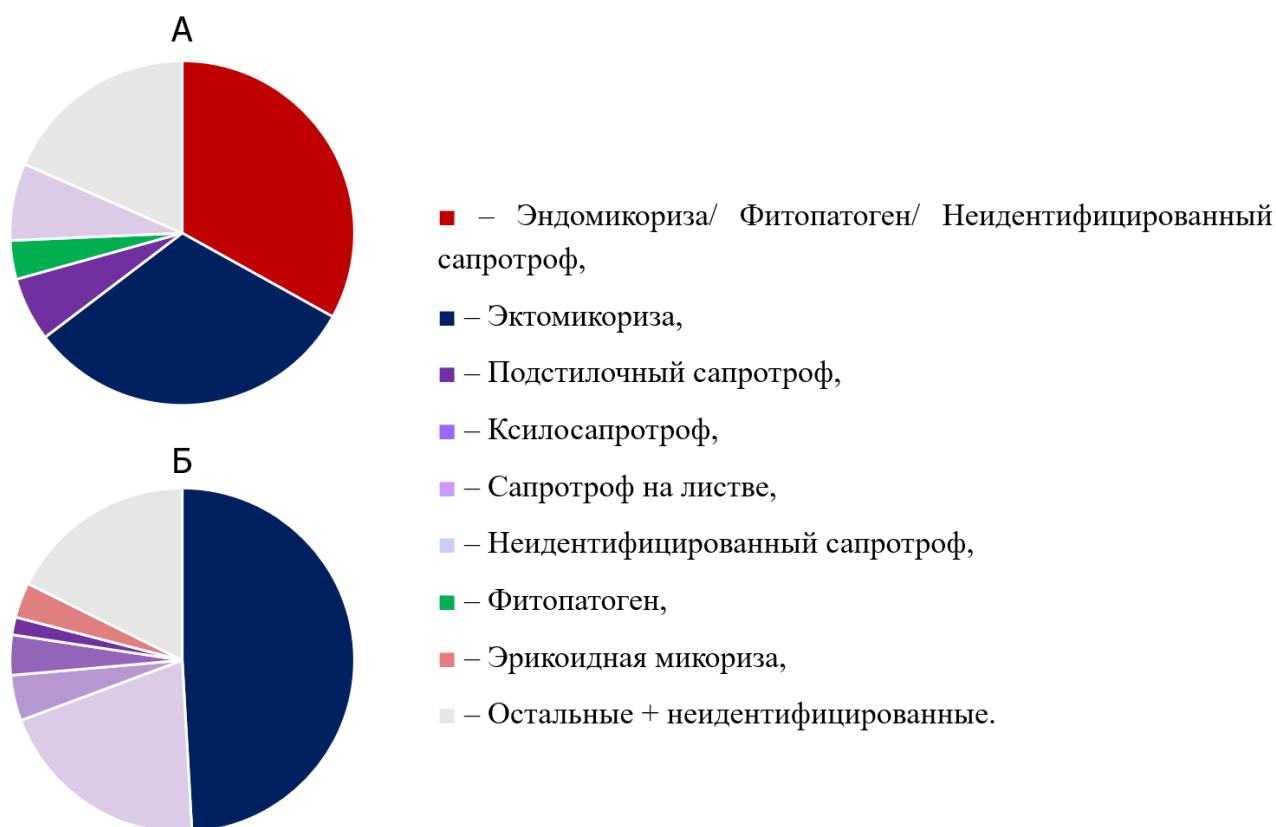


Рисунок 10. Состав экологических групп грибов в корнях *G. repens* (А) и в почве (Б) по данным FUNGuild

Различие в таксономическом составе корневой и почвенной микобиоты выявляются на уровне порядков. В корнях *G. repens* большей долей представлен порядок Cantharellales, существенную часть которого (99,5%) составляет семейство Ceratobasidiaceae, и порядок Sebaciniales – группы, включающие специфичных микобионтов орхидной микоризы (Weiß et al., 2016). Преобладание микобионтов ОМ в корнях *G. repens* обуславливает отличие в составе экологических групп корневой и почвенной микобиоты. В силу разнообразия экологических стратегий внутри семейства Ceratobasidiaceae (Пильщикова, Ганнибал, 2016), его представители классифицируются по базе данных FUNGuild в группу «Эндомикориза/ Фитопатоген/ НС», являющуюся доминирующей в образцах корней *G. repens*. Представителям порядка Sebaciniales не присвоена экологическая группа с помощью FUNGuild. В корнях *G. repens* присутствует также экологическая группа «фитопатоген», представленная преимущественно (65,2%) ОТЕ *Thanatephorus ochraceus*. Этот вид относится к семейству Ceratobasidiaceae и способен формировать ОМ (Roberts, 1998). Несмотря на это, далее этот вид будет рассмотрен как фитопатоген в соответствии с данными FUNGuild для объяснения различий между образцами.

Таксономический состав почвенной микобиоты отличается большей долей представителей отдела Ascomycota: порядков Helotiales, Mytilinidiales и Eurotiales, а также порядка Trechisporales. Представители порядков Helotiales и Trechisporales (*Trechispora* spp.) классифицированы как сапротрофы на различных субстратах, что обуславливает большую долю этой экологической группы в почве. Среди порядка Helotiales доминируют сапротрофы *Hyaloscypha* spp. и микобионты эрикоидной микоризы *Oidiodendron* spp. Порядки Mytilinidiales и Eurotiales представлены соответственно ОТЕ *Cenococcum geophilum* (99,0% ОТЕ порядка) и *Elaphomyces* spp. (65,5% ОТЕ порядка), классифицированными как микобионты ЭкМ. Грибы этих таксонов на исследуемых территориях развиваются локально и составляют существенную долю в одном или двух образцах почвы. Тем не менее, они вносят вклад в доминирующую долю микобионтов ЭкМ в почвенной микобиоте. Подавляющая доля микобионтов ЭкМ как в почвенном, так и в корневом сообществе представлена базидиомицетами порядков Agaricales, Russulales, Atheliales и Thelephorales.

Таким образом, отличие в составе микобиоты между объединенными образцами корневой системы *G. repens* и почвы прослеживается как в таксономическом составе, так и в распределении экологических групп и обусловлено в первую очередь грибами-микоризообразователями рода *Ceratobasidium* – микобионтами *G. repens*, отнесенными к экологической группе «Эндомикориза/ Фитопатоген/ НС». Различия микобиоты этих экотопов связаны также с некоторыми таксонами эктомикоризообразователей: *Cenococcum geophilum*, *Elaphomyces* spp., преобладающими в образцах корневой системы *G. repens*, а также сапротрофами порядков Helotiales и Trechisporales, обильнее представленными в почве.

Региональная специфичность корневой микобиоты

Регион произрастания *G. repens* обуславливает различия в таксономическом составе корневой микобиоты, но не в распределении экологических групп. В отличие от образцов почвы, единообразных по экологическому распределению грибов, корневая микобиота разнородна, и различия между точками внутри одного региона могут быть существенно различий между точками в разных (см. рис. 8). В связи с этим, таксономический состав рассмотрен для точек, объединенных по регионам, а распределение экологических групп представлено отдельно для каждой точки (см. рис. 11, 12).

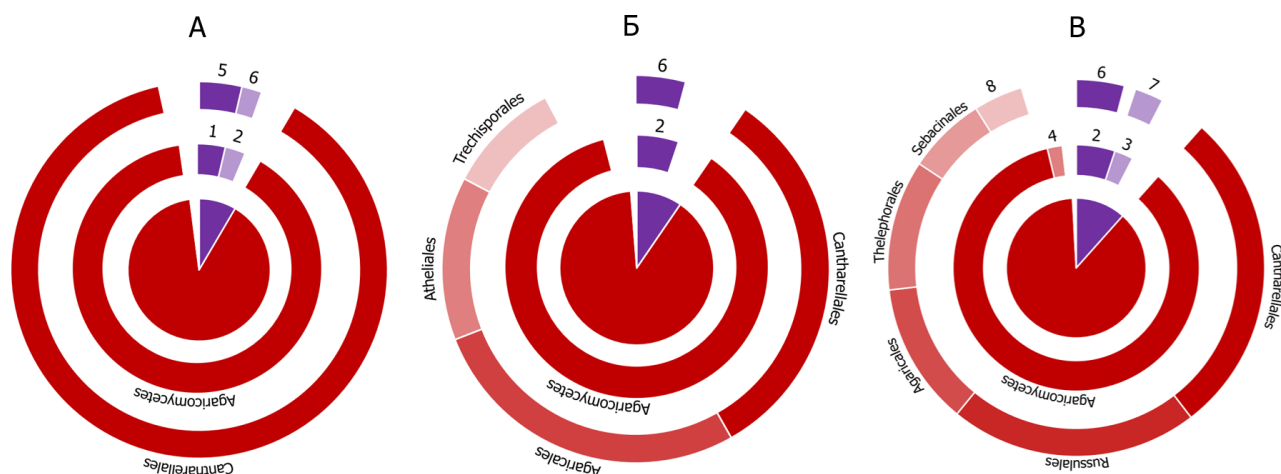


Рисунок 11. Таксономический состав микобиоты корней *G. repens* в Ленинградской области (А), Московской области (Б) и Карачаево-Черкесии (В) до ранга порядков. Приведены таксоны, представленные более 2% от общего числа ОТЕ в образце. 1 – Leotiomycetes, 2 – Eurotiomycetes, 3 – Pezizomycetes, 4 – Tremellomycetes, 5 – Helotiales, 6 – Chaetothyriales, 7 – Pezizales, 8 – Atheliales

Таксономический состав грибного сообщества в корнях *G. repens* из разных регионов остается постоянным на уровне отделов и классов, а существенные различия наблюдаются на уровне порядков класса Agaricomycetes. В образцах корневой системы *G. repens* Ленинградской области доминирует единственный порядок этого класса – Cantharellales (семейство Ceratobasidiaceae). Доля представителей этого порядка в образцах составляет 98,6% ОТЕ класса. В образцах Московской области значительную долю также составляют порядки Agaricales (31,6%), Atheliales (15,8%) и Trechisporales (11,1%). В образцах корней *G. repens* из Карачаево-Черкесии доминируют также порядки Russulales (25,2%) и Sebaciales (8,0%).

Таким образом, наиболее яркие различия в таксономическом составе на уровне порядков в микобиоте корней *G. repens* обусловлены таксонами микобионтов ЭкМ. Отсутствие отличий в таксономическом составе корневой микобиоты *G. repens* Московской и Ленинградской областей обусловлено существенным различием таксономического состава двух образцов Ленинградской области: в обоих образцах грибы семейства Ceratobasidiaceae составляют более 79% при отсутствии микобионтов ЭкМ, однако представлены разными ОТЕ рода *Ceratobasidium* (см. рис. 15, раздел 3.3.3).

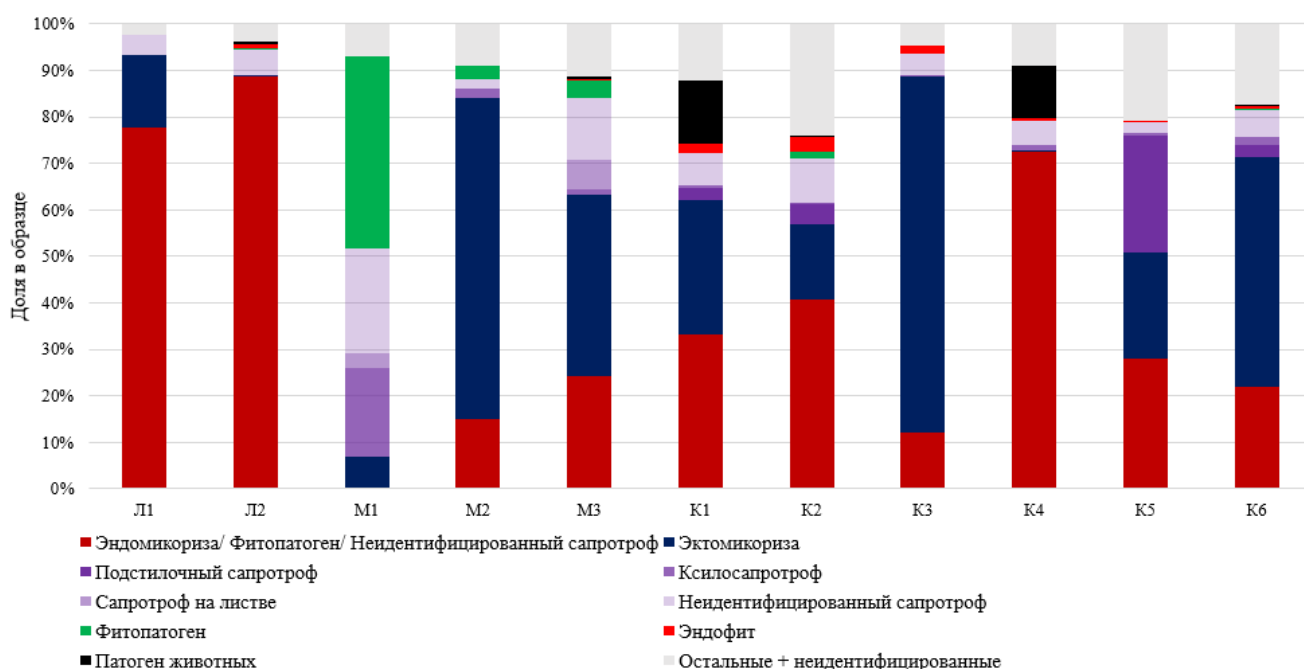


Рисунок 12. Распределение экологических групп грибов в корнях *G. repens* из разных регионов по данным FUNGuild. Обозначения точек сбора приведены в табл. 2.

Региональные различия в составе экологических групп корневой микобиоты *G. repens* обусловлены группами «Эндомикориза/ Фитопатоген/ НС» (семейство *Ceratobasidiaceae*), а также микобионтами ЭкМ и фитопатогенами. В корнях *G. repens* Ленинградской области доля микобионтов ЭкМ ниже, чем в остальных регионах. Высокая доля фитопатогенов в корнях *G. repens* из Московской области обусловлена отнесением к этой группе ОТЕ *Thanatephorus ochraceus*. Однако было показано, что представители этого вида способны формировать ОМ наряду с *Ceratobasidium* (Roberts, 1998).

Доминирующие ОТЕ относятся к микобионтам ОМ и ЭкМ, эндифитам и сапротрофам. ОТЕ сапротрофов, выявленные в IV квартили образцов корней *G. repens*, перечислены в Приложении 3. Обилие почвенных, подстильных и ксилотрофных сапротрофов в корнях *G. repens* объясняется либо контаминацией, либо указывает на ограниченную способность этих таксонов колонизировать корни орхидных (Selosse et al., 2010). Формирование ОМ с сапротрофными грибами показана для бесхлорофилльных тропических орхидных (Xu, Guo, 2000; Li Y. Y. et al., 2022), в связи с чем невозможно точно предположить роль этих грибов в корнях *G. repens* (Бибиков и др., 2024). Далее подробно рассмотрены структуры сообществ микоризообразователей и эндифитов в корнях *G. repens*.

3.3.3 Сообщество микоризообразователей в корнях *G. repens*

В контексте влияния на функционирование экосистемы наибольший интерес представляют таксоны грибов, существующие в ассоциации с растениями, а именно симбионты

ОМ, ЭкМ и эндофиты. Далее представлено подробное описание симбиотической микобиоты, выявленной в образцах *G. repens*. Приуроченность той или иной ОТЕ к корням определялась исходя из известной по литературе экологической роли как микоризообразователя или эндофита. С целью определения тяготения определенной ОТЕ к корням *G. repens* последовательности в каждом образце были ранжированы по процентной доле от общего числа ОТЕ в образцы и разделены на квартили от I (минорный вид) до IV (доминантный вид). При условии более высокой представленности потенциального микобионта в образце корней по сравнению с почвой делалось предположение о его тяготении к корням *G. repens*.

С целью определения таксонов, образующих микоризу с *G. repens* на изученных территориях, были тщательно проанализированы ОТЕ таксонов, известных как микобионты орхидных.

Доминирующими экологическими группами в образцах корней *G. repens* являются микобионты ОМ и ЭкМ (см. рис. 12). К доминирующей квартили из специфичных микобионтов ОМ в образцах корней относятся представители семейства Ceratobasidiaceae, а также ОТЕ порядка Sebaciniales. ОТЕ семейства Tulasnellaceae в исследованных образцах не выявлены. Из микобионтов ЭкМ выявлены представители порядков Atheliales, Russulales, Thelephorales, Agaricales и Trechisporales. Микобионты ОМ и ЭкМ выявляются как в образцах корней, так и в почве (см. рис. 13).

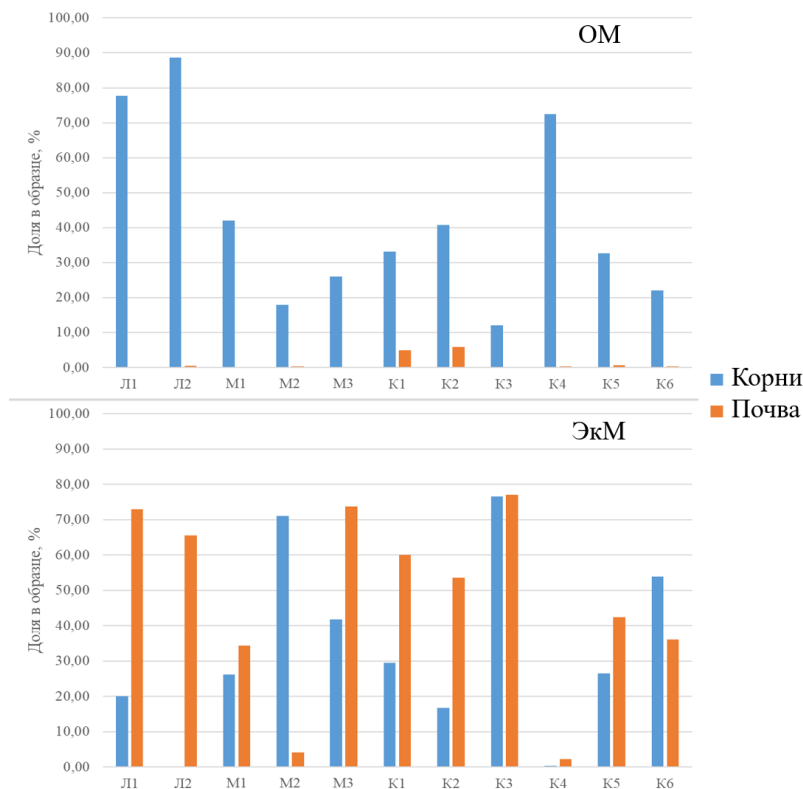


Рисунок 13. Доля микобионтов ОМ и ЭкМ в корнях *G. repens* и в почве. Обозначения точек сбора приведены в табл. 2.

Доля микобионтов ОМ во всех образцах корней *G. repens* существенно выше, чем в соответствующих образцах свободной почвы, тогда как доля микобионтов ЭкМ не зависит от типа образца: ОТЕ эктомикоризообразователей могут быть представлены в доминирующей четверти как образцов корней, так и почвы.

В IV четверти девяти из 11 образцов корней выявляются одновременно микобионты ОМ и ЭкМ (см. рис. 14).

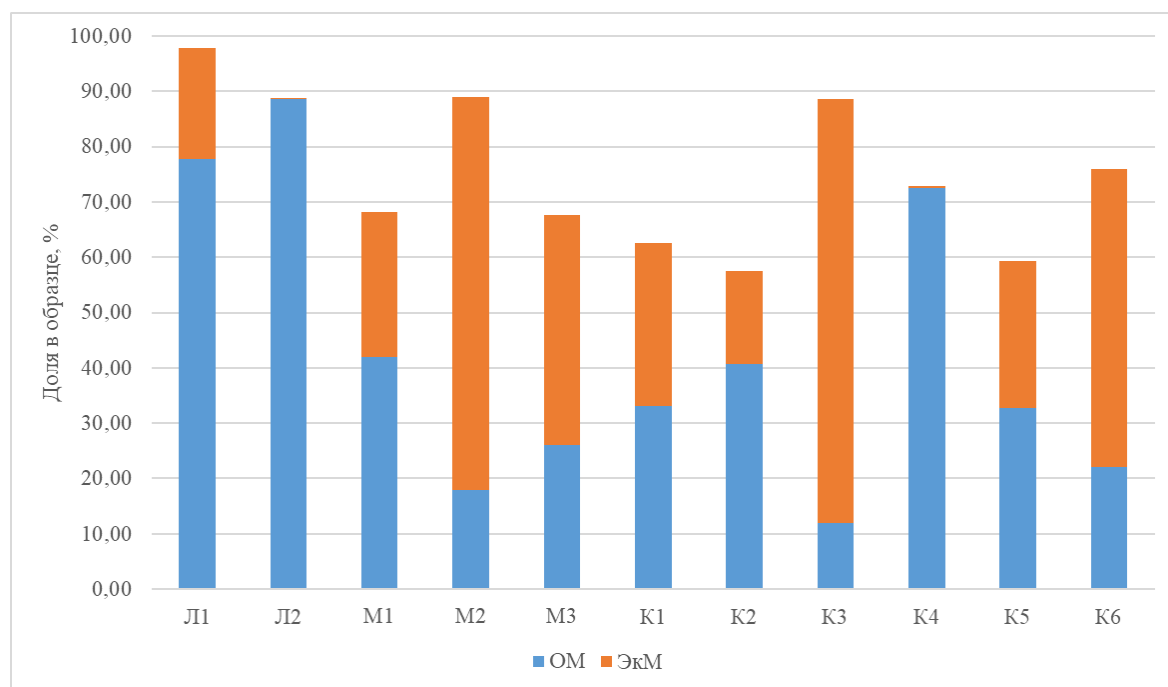


Рисунок 14. Доля микобионтов ОМ и ЭкМ в образцах корней *G. repens*. Обозначения точек сбора приведены в табл. 2.

На рис. 14 заметно, что при более высокой доле микобионтов ЭкМ снижается доля микобионтов ОМ. Значения коэффициентов корреляции Спирмена и Пирсона также указывают на сильную обратную зависимость ($-0,95$ и $-0,86$ соответственно). В точках Л2 и К4, находившихся вне доступа корней хвойных деревьев, микобионты ЭкМ представлены наименьшими долями ($0,11$ и $0,35\%$ соответственно), в то время как микобионты ОМ – наибольшими ($88,6$ и $72,4\%$ соответственно). Четкая обратная корреляция, обусловленная доступностью корней ЭкМ деревьев, указывает на возможность зависимости микобиоты *G. repens* от хвойных и указывает на возможность получения орхидеями питательных веществ посредством микоризных сетей.

Таким образом, в корнях *G. repens* больше половины ОТЕ составляют микобионты ОМ и ЭкМ. Микобионты ОМ явно тяготеют к корням *G. repens*, тогда как микобионты ЭкМ находятся также и в почве. Существенная доля ОТЕ ЭкМ грибов в почве указывает на их интенсивное распространение и предполагает наличие микоризных сетей, объединяющих корни хвойных деревьев и *G. repens* общим потоком питательных веществ. Наличие микобионтов ЭкМ строго приурочено к наличию хвойных деревьев вблизи куртины *G. repens*. Обратная корреляция долей микобионтов ОМ и ЭкМ указывает на наличие конкуренции между представителями этих экологических групп. Эти данные свидетельствуют о том, что доступность корней хвойных деревьев является одним из значимых факторов, влияющих на функционирование микоризы *G. repens*, и в некоторых случаях доля микобионтов ЭкМ в корнях орхидеи выше доли ОМ грибов, что указывает на предпочтительность такого симбиоза.

Ceratobasidiaceae

Большинство выявленных микобионтов ОМ относятся к семейству Ceratobasidiaceae. Их ОТЕ выявлены в каждом изученном образце корней *G. repens*.

В общей сложности анализ выявил 5 ОТЕ, относящихся к семейству Ceratobasidiaceae: 4 ОТЕ рода *Ceratobasidium* и одна ОТЕ рода *Thanatephorus*. В силу неясности филогении семейства Ceratobasidiaceae ОТЕ рода *Ceratobasidium* не идентифицированы до уровня вида. Предполагаемые виды были выделены на основе взаимного сходства не более 97% и обозначены номерами. Выявленные последовательности депонированы в базу данных GenBank (см. табл. 6).

Таблица 6. Выявленные ОТЕ семейства Ceratobasidiaceae

Таксон	Номер GenBank	Регион
<i>Ceratobasidium</i> sp3	OQ244428.1	Л, М, К
<i>Ceratobasidium</i> sp5	OP800122.1	Л, М
<i>Ceratobasidium</i> sp6	OP800123.1	Л
<i>Ceratobasidium</i> sp7	OP782636.1	К
<i>Thanatephorus ochraceus</i>	OP782644.1	Л, М

Разнообразие микобионтов проявляется на уровне регионов: в масштабах одного местообитания могут произрастать растения, образующие микоризу с разными таксонами грибов. Выявлены общие для разных регионов микобионты: *Ceratobasidium* sp3 выявлен во всех трех регионах, а *T. ochraceus* и *Ceratobasidium* sp5 присутствуют в образцах Московской и Ленинградской областей.

Помимо представителей родов *Ceratobasidium* и *Thanatephorus*, выявлена одна ОТЕ вида *Waitea circinata*. ОТЕ выявлена в образце корней *G. repens* МЗ и составляет 1,7% от общего числа последовательностей в образце. Малая представленность этого вида не позволяет предположить, что он способен формировать ОМ на исследуемой территории, однако наличие *W. circinata* указывает на потенциальную возможность формирования ОМ с *G. repens* при отсутствии ограничивающих факторов.

Представленность ОТЕ семейства Ceratobasidiaceae в образцах варьирует от 12,8% (КЗ) до 88,1% (Л2). При этом, в каждом образце выявлена одна ОТЕ, относящаяся к доминантной квинтили и имеющая существенно более высокую представленность по сравнению с другими (см. рис. 15).

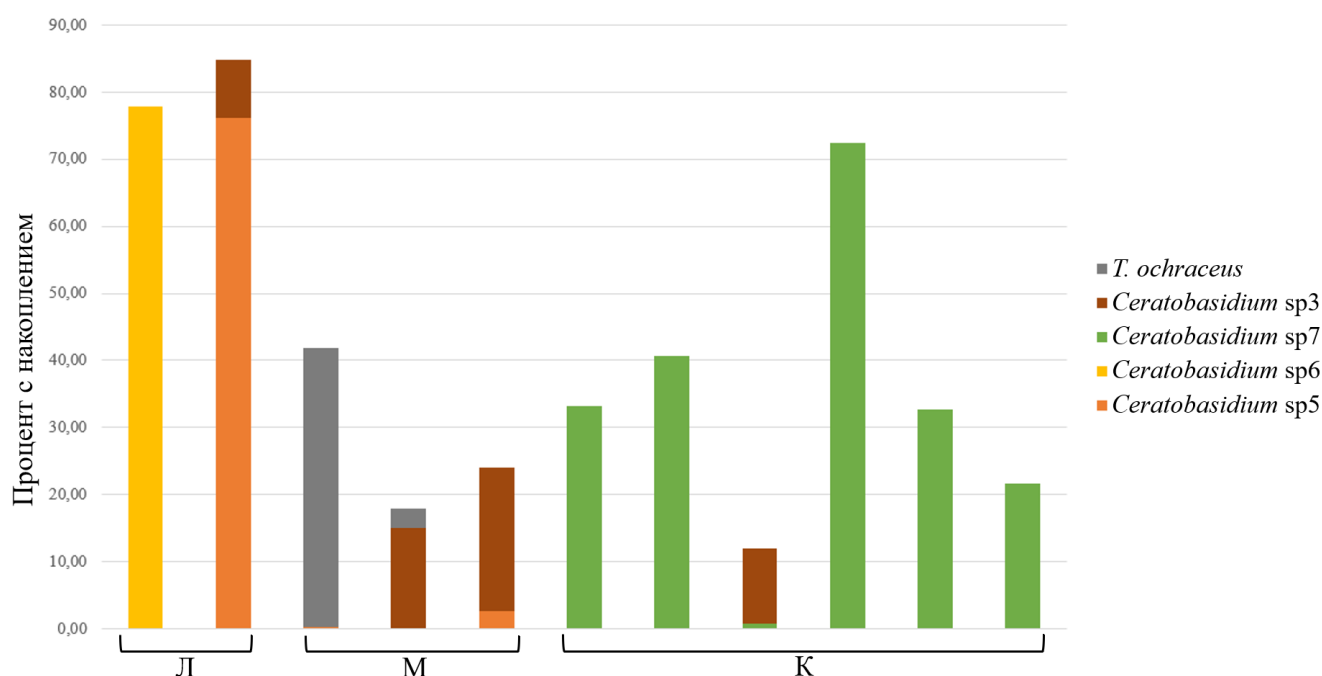


Рисунок 15. Доля ОТЕ представителей семейства Ceratobasidiaceae в образцах корней *G. repens*

Представители семейства Ceratobasidiaceae являются основными микобионтами *G. repens* на изучаемых территориях. Стабильность этой ассоциации была неоднократно продемонстрирована другими исследователями (Constantin, Dufour, 1920; Cameron et al., 2006; Voronina et al., 2018), как и возможность ассоциации *G. repens* с различными представителями этого семейства в рамках одной популяции (Shefferson et al., 2010).

С целью установления экологического статуса и распространения изолятов проанализированы близкородственные выявленным последовательности из базы данных GenBank. Экологический статус референсов определен исходя из описания, данного в источнике (см. табл. 7).

Таблица 7. Референсные выявленным ОТЕ Ceratobasidiaceae последовательности со сходством выше 97%

Номер GenBank	Сходство, %	Растение-хозяин	Регион
Ceratobasidium sp3		G. repens	Россия: Л, М, К
MH855688.1	99,03	<i>Quercus pedunculata</i>	Италия
MH248045.1	99,03	<i>Goodyera repens</i>	Московская обл., Россия
AJ419929.1	99,03	<i>Pinus sylvestris</i>	Финляндия
KP056301.1	98,46	<i>Goodyera repens</i>	Норвегия
EU668908.1	98,46	<i>Pyrola rotundifolia</i>	Эстония
KF646110.1	97,49	<i>Rosa rugosa</i>	Литва
JQ972064.1, JQ972069.1, JQ972066–67.1, JQ972072–73.1	97,3	<i>Platanthera yadonii</i>	Калифорния, США
GQ268595.1	97,3	Dipterocarpaceae	Малайзия
Ceratobasidium sp5		G. repens	Россия: Л, М
KU516417.1	100	<i>Abies alba</i>	Польша
OL437012.1	98,88	<i>Pinus taeda</i>	Айдахо, США
MK397197.1	97,49	<i>Pinus greggii</i>	Мексика
Ceratobasidium sp6		G. repens	Россия: Л
KP056302.1	99,45	<i>Goodyera repens</i>	Норвегия
MZ078478.1	99,17	<i>Quercus robur</i>	Польша
DQ309181.1	98,62	<i>Calluna vulgaris</i>	Австралия
JQ972107.1, JQ972109.1, JQ972111.1, JQ972113–17.1	98,06	<i>Platanthera yadonii</i>	Калифорния, США
MW927755–56.1, MW927758.1, MW927767.1, MW927770–71.1	97,79	<i>Platanthera cooperi</i>	США
Ceratobasidium sp7		G. repens	Россия: К
MN006062.1	98,9	<i>Gymnadenia conopsea</i>	Китай
HM141046.1	98,34	<i>Goodyera velutina</i>	Япония
HM141010.1	97,79	<i>Goodyera tessellata</i>	Массачусетс, США
T. ochraceus		G. repens	Россия: М
MN684576.1	99,23	<i>Taeniophyllum glandulosum</i>	Китай
AB831841.1	97,69	<i>Neottia</i> sp.	Япония
EU218892.1	97,44	Orchidaceae gen sp.	НД
FJ788721–22.1	97,18	<i>Pterygodium alatum</i>	ЮАР

Все последовательности, имеющие высокое сходство с выявленными, относятся к семейству Ceratobasidiaceae и отмечаются в ассоциации с растениями. В силу неясной филогении семейства и небольшого числа доступных последовательностей нельзя однозначно подобрать видовой порог для гипотезы вида в рамках Ceratobasidiaceae. При использовании стандартного порога в 97% наблюдается большой разброс предполагаемых местообитаний и

наличие общих референсов у разных последовательностей. Тем не менее, такое сравнение позволяет оценить приуроченность той или иной ОТЕ и предположить степень географической и экологической специфичности.

Референсы *Ceratobasidium* sp3 выявлены в корнях *G. repens* и в местообитаниях, приуроченных к хвойным лесам: корнях *P. sylvestris* и *Pyrola rotundifolia*. Также схожие последовательности отмечены в ассоциации с орхидеей *Platanthera yadonii* и другими хозяевами: *Rosa rugosa*, *Quercus pendunculata* и представителем семейства Dipterocarpaceae. ОТЕ *Ceratobasidium* sp3 неоднократно отмечается в хвойных лесах северной Европы и, по всей видимости, является наиболее распространенным микобионтом *G. repens* в этом регионе. Наиболее схожая последовательность выявлена в корнях дуба (*Quercus pedunculata*), однако идентифицирована как одноядерная *Rhizoctonia quercus* (Castellani, 1934), в то время как выявленный в данной работе изолят является двуядерным (см. раздел 3.5.2). Таким образом, идентификация этого изолята остается на уровне рода. ОТЕ *Ceratobasidium* sp3 выявлены во всех трех изучаемых регионах, что позволяет предположить его присутствие и в других местообитаниях. Тем не менее, большинство данных свидетельствуют об узкой специализации этой ОТЕ как микобионта *G. repens* в бореальных хвойных лесах.

Референсы *Ceratobasidium* sp5 выявлены в ассоциации с корнями хвойных деревьев: пихты и сосны в Польше, США и Мексике. Таксон явно приурочен к хвойным лесам, однако за недостаточностью данных сложно предполагать границы его ареала. В данном исследовании *Ceratobasidium* sp5 выявлен в одной точке сбора в Ленинградской области, являясь основным микобионтом *G. repens* (76,2% от общего числа прочтений в образце корней).

Референсы *Ceratobasidium* sp6 отмечались в ассоциации с корнями *G. repens* в Норвегии и в хвойных лесах (корни *Calluna vulgaris*) в Австралии, а также в ассоциации с корнями орхидей *P. yadonii* и *P. cooperi* и в широколиственных лесах (*Quercus robur*). По имеющимся данным можно предполагать приуроченность этого потенциального вида к хвойным лесам. Как и *Ceratobasidium* sp5, эта ОТЕ доминирует в одной точке Ленинградской области (77,8% от общего числа прочтений в образце корней). Выявление в корнях *G. repens* в Норвегии позволяет предположить устойчивость этой ассоциации.

Референсы *Ceratobasidium* sp7 выявлены в ассоциации с двумя видами рода *Goodyera*: *G. velutina* и *G. tessellata*, и в корнях орхидеи *Gymnadenia conopsea*. В данном исследовании *Ceratobasidium* sp7 специфичен для Карачаево-Черкесии. В пяти из шести пробных точек в этом регионе эта ОТЕ относится к доминирующей IV квартили. Эти данные позволяют

предположить, что *Ceratobasidium* sp7 является специфичным микобионтом ОМ с широким географическим распространением.

Референсы *T. ochraceus* выявлены в корнях различных орхидных. Представители этого вида являются сапротрофами, способными к образованию ОМ (Roberts, 1998). Несмотря на то, что большинство представителей рода *Thanatephorus* являются патогенами, выявление данной ОТЕ исключительно в корнях орхидных может свидетельствовать о наличии эволюционных линий, специализирующихся на формировании ОМ.

Таким образом, из пяти выявленных ОТЕ семейства Ceratobasidiaceae, одна (*Ceratobasidium* sp5) впервые обнаружена в ассоциации с орхидными, две (*Ceratobasidium* sp5, *T. ochraceus*) – в ассоциации с родом *Goodyera*, и три (*Ceratobasidium* sp5, 7, *T. ochraceus*) – в ассоциации с видом *G. repens*.

Зависимость распределения популяций орхидных от наличия доступного микобионта (Waud et al., 2016) предполагает, что микобионты могут быть распределены кластерно и обуславливают мозаичность популяций *G. repens* по отношению к микобионтам. Такая мозаичность хорошо видна на примере популяций Ленинградской и Московской областей, где сложно выявить доминирующего микобионта. Популяция в Карачаево-Черкесии по большей части единообразна, и лишь в одной из шести точек микобионт отличается. Единообразие микобионтов в популяции характерна для видов-специалистов и может наблюдаться на уровне популяций (Rammitsu et al., 2019; Qin et al., 2021a). Поскольку *G. repens* является бореальным видом, произрастание его в пихтарнике в условиях высотной зональности может не быть оптимальным, что обуславливает специализацию и сужение диапазона микобионтов. Формирование ОМ с микобионтом *Ceratobasidium* sp7 может обуславливаться широким ареалом микобионта и потенциальной доступностью в субоптимальных для *G. repens* местообитаниях.

Sebacinales

В исследованных образцах были выявлены 4 ОТЕ, относящиеся к порядку Sebacinales. Выявлены представители семейств Sebacinaceae (род *Sebacina*) и Serendipitaceae (род *Serendipita*). Выявленные ОТЕ депонированы в базу данных GenBank (см. табл. 8).

Таблица 8. Выявленные ОТЕ порядка Sebacinales

Таксон	Номер GenBank	Образец	Квартиль
<i>Sebacina</i> sp1	OQ238822.1	M1, корень	I
		K5, корень	IV

		К5, почва	I
		К6, корень	II
		К6, почва	I
<i>Sebacina incrustans</i>	OQ238823.1	К5, корень	I
		К6, корень	IV
		К6, почва	IV
<i>Serendipita</i> sp.	OQ238824.1	M1, корень	I
		M3, корень	I
<i>Sebacina</i> sp2	OQ238825.1	К3, корень	II

Представленность ОТЕ порядка Sebacinales существенно ниже по сравнению с Ceratobasidiaceae. ОТЕ *Sebacina* sp2 и *Serendipita* sp. представлены в образцах малыми долями (<1%, I–II квартили). В образцах корней к IV квартили относятся ОТЕ *Sebacina* sp1 (точка К5) и *S. incrustans* (точка К6), однако вторая ОТЕ существенно больше представлена в почве. Тем не менее, учитывая широкий спектр микоризной активности, свойственный представителям порядка Sebacinales (Robert et al., 2013; Weiß et al., 2016), нельзя исключать возможность участия этих грибов в формировании микоризных сетей. В связи с этим были исследованы схожие последовательности согласно базе данных GenBank. В связи с большим числом референсных последовательностей был взят порог от 97 до 100% в зависимости от числа доступных референсов (см. табл. 9).

Таблица 9. Схожие последовательности Sebacinales согласно базе данных GenBank

Номер GenBank	Сходство, %	Исходный материал	Регион
<i>Sebacina</i> sp1		<i>G. repens</i>	Россия: М, К
MN265706.1	100,0	<i>Abies alba</i>	Словения
MN265707.1			
MN265713.1			
MN265715.1	99,4	<i>Betula</i> sp.	Япония
LC175163.1	99,7		
MF352776.1	99,7		
AB922975.1	99,7	<i>Pinus sylvestris</i>	Великобритания
LC711958.1	99,7	<i>Tsuga</i> sp.	Япония
JQ975981.1	98,5	<i>Abies sachalinensis</i>	Япония
HQ154413.1	98,2	<i>Pinus pinaster</i>	Испания
HQ154346.1	98,2	<i>Oxalis acetosella</i>	Германия
HQ154279.1	98,2	<i>Soldanella alpina</i>	
		<i>Campanula scheuchzeri</i>	
<i>Sebacina incrustans</i>		<i>G. repens</i>	Россия: М, К
MK627322.1	100,0	Почва букового леса	Австрия
KU924633.1	100,0	<i>Alnus glutinosa</i>	Франция: Корсика
KU564080.1	100,0	<i>Fagus sylvatica</i>	Германия
KM247665.1	100,0	<i>Arbutus unedo</i>	Франция

KM576575.1	100,0	<i>Quercus petraea</i>	Венгрия
OW846509.1	100,0	НД	Китай: Тяньшань
JQ890306.1	100,0	<i>Alnus</i> sp.	Франция
JX989994.1			
JQ665539.1	100,0	<i>F. sylvatica</i> , <i>P. abies</i> , <i>P. sylvestris</i>	Германия
JQ665535.1			
LC623494.1	100,0	<i>Pinus tabuliformis</i>	Китай
LC622772.1			
LC622750.1			
LC622745.1			
LC622744.1			
LC622725.1			
MW248503.1	100,0	НД	Испания
EF644146.1	100,0	<i>Populus tremula</i>	Австрия
EF644113.1			
DQ520095.1	100,0	НД	НД
AY940644.1	100,0	Плодовое тело	Италия
<i>Serendipita</i> sp.		<i>G. repens</i>	Россия: М
MW723350.1	97,3	<i>Microtis media</i>	Австралия
MN684705.1	97,0	Эпифитная орхидея	Китай: Юньнань
MW231961.1	97,0	<i>Taeniophyllum</i> sp.	Китай: Юньнань
FJ788824.1	97,0	<i>Pterygodium catholicum</i>	ЮАР
<i>Sebacina</i> sp2		<i>G. repens</i>	Россия: К
HQ154420.1	99,1	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Германия
HQ154421.1			
KC965788.1	98,5	Почва	Канада
KJ008814.1	97,6	<i>Picea abies</i>	Финляндия

Референсы всех выявленных ОТЕ порядка Sebacinales ранее отмечались в ассоциации с микоризообразующими растениями или в окружающей их почве. ОТЕ рода *Sebacina* чаще всего обнаруживаются в ассоциации с эктомикоризными деревьями. Сходные с *Sebacina* sp1 и 2 последовательности выявляются в ассоциации с корнями хвойных деревьев в Европе, Канаде и Японии. Присутствие этого ОТЕ в корнях *G. repens* может свидетельствовать об участии ее в формировании микоризных сетей в исследуемых регионах. ОТЕ *S. incrustans* имеет 100% сходство с большим числом последовательностей, выявленных в эктомикоризных корнях широколиственных деревьев, преимущественно на территории Европы. Существенная доля этой ОТЕ в почве К6, а также минорное присутствие в точке К5 свидетельствует о локальном распространении *S. incrustans* в качестве симбионта эктомикоризы пихты. Отсутствие данных об ассоциации этих ОТЕ с орхидными указывает на неспецифичность этой ассоциации, а малая представленность в изучаемых образцах корней не позволяет утверждать возможность формирования ими ОМ.

ОТЕ *Serendipita* sp. выявляется в ассоциации с различными видами орхидных: *Microtis media*, *Taeniophyllum* sp., *Pterygodium catholicum* и неидентифицированной эпифитной орхидеи.

Многие исследования показывают приуроченность представителей семейства Serendipitaceae к корням орхидных (Fritsche et al. 2021; Oktalira et al., 2021), однако на изучаемых территориях ОТЕ представлена как минорная (<1%, I–II квартиль) в точках М1 и М3, что указывает на несущественную колонизацию этим видом корней *G. repens*. Неспособность сформировать ОМ можно объяснить неоптимальными условиями для развития этого вида *Serendipita*, так как он выявлялся в ассоциации с тропическими орхидными Африки и Китая, а также неоднократно показанной стабильностью ассоциации *G. repens* с микобионтами семейства Ceratobasidiaceae.

Таким образом, ОТЕ порядка Sebaciales представлены в исследованных образцах существенно меньшими долями, чем микобионты Ceratobasidiaceae. Высокое обилие вида *S. incrustans* в почве и корнях *G. repens* указывает на его роль как локального симбионта эктомикоризы и предполагает его участие в формировании микоризных сетей. Низкое обилие других представителей этого порядка не позволяет предположить их существенную роль в формировании ОМ или ЭкМ на изучаемых территориях.

Эктомикоризообразователи

Помимо таксонов, специфичных для ОМ, крайне важно сообщество симбионтов ЭкМ, так как именно эти таксоны обуславливают структуру сообщества, формируя микоризу с лесообразующими породами деревьев. На исследуемых территориях доминируют эктомикоризообразователи порядков Atheliales, Russulales, Thelephorales, Agaricales и Trechisporales (см. рис. 16).

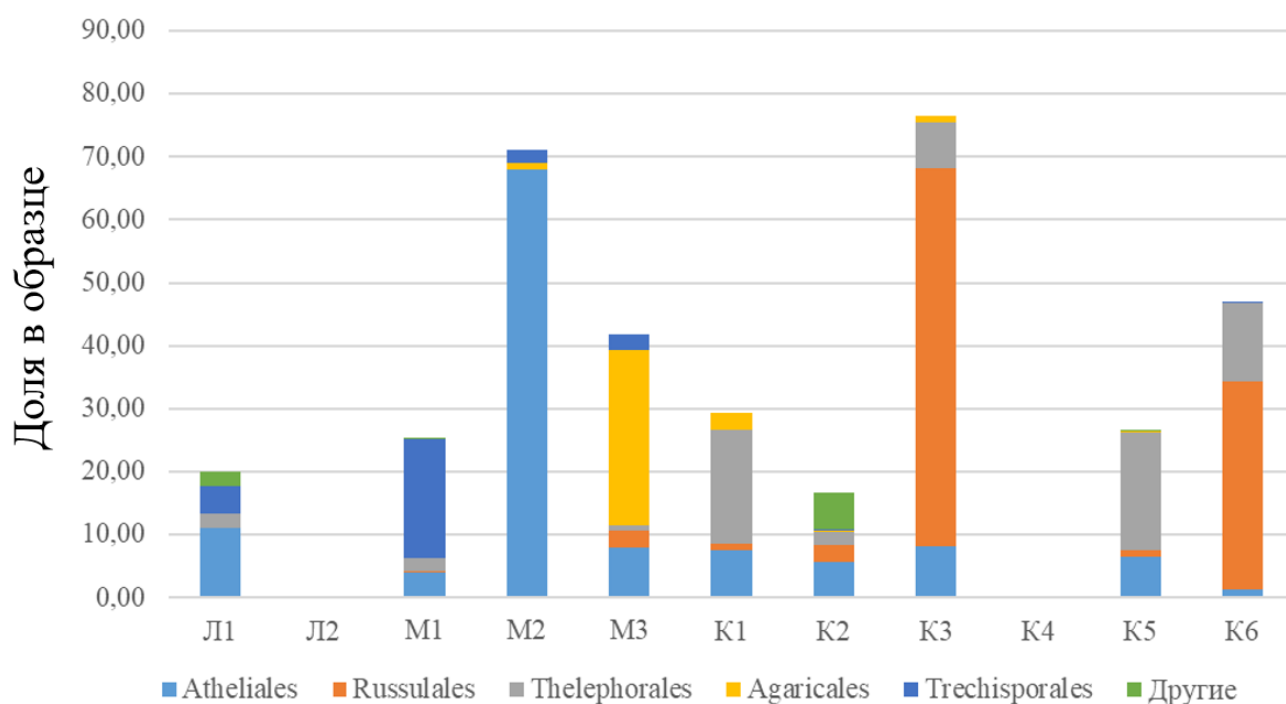


Рисунок 16. Доля основных порядков ЭкМ грибов в образцах корней *G. repens*

Таксоны симбионтов ЭкМ обнаружены в доминирующей кватили всех образцов кроме двух (J12 и K4). В этих точках куртины *G. repens* были расположены в местах без доступа к корням хвойных растений и имели более высокое содержание микобионтов семейства *Ceratobasidiaceae*. Даже на уровне порядков не наблюдается таксономической приуроченности ЭкМ таксонов грибов к корням *G. repens*, а в корнях одной точки сбора могут находиться представители нескольких порядков. Таким образом, вероятная ассоциация орхидеи с ЭкМ хвойных деревьев формируется локальным сообществом грибов, образующих ЭкМ с определенной особью хвойного дерева, находящейся вблизи куртины.

Отдельные ОТЕ, доминирующие в одной или нескольких точках, исследованы более подробно в контексте вероятного формирования ассоциации с *G. repens*. Ниже приведена встречаемость наиболее представленных (IV кватиль) таксонов в образцах корней *G. repens*, а также предположена их экологическая приуроченность, выясненная путем изучения схожих последовательностей (см. табл. 10).

Таблица 10. Выявленные ОТЕ ЭкМ грибов и предполагаемое растение-хозяин: Ш – широколиственные, Х – хвойные

Таксон	Образец корней	Местообитание (по референсам)
Agaricales		
<i>Cortinarius casimiri</i>	M3	ЭкМ. Ш. Бореальный
Atheliales		
<i>Amphinema byssoides</i>	M2	ЭкМ. Ш, Х. Бореальный
<i>Piloderma olivaceum</i>	M1	ЭкМ. Х. Бореальный
<i>Piloderma</i> sp.	K5	ЭкМ, АрМ. Х. Бореальный
<i>Tylospora fibrillosa</i>	M3	ЭкМ, ОМ. Х. Бореальный
<i>Tylospora</i> sp.	M1, 2, K1–3	ЭкМ, АрМ. Х. Космополит
Russulales		
<i>Russula laricina</i>	K2, 3	ЭкМ. Х. Умеренный
<i>Russula recondita</i>	K6	ЭкМ. Х, Ш. Европа, Иран
<i>Russula sanguinea</i>	K3	ЭкМ. Х. Умеренный
<i>Russula vinosa</i>	M3	ЭкМ, ОМ. Х. Бореальный
Trechisporales		
<i>Luellia recondita</i>	M3	ЭкМ. Х. Бореальный
<i>Trechispora invisitata</i>	M1	ЭкМ. Х. Бореальный
Thelephorales		
<i>Pseudotomentella tristis</i>	K5	ЭкМ. Х. Умеренный

<i>Tomentella bryophila</i>	K1–3, 5, 6	ЭкМ. X, III. Умеренный
<i>Tomentella stuposa</i>	M1, K3, 5	ЭкМ. X, III. Умеренный

Итого в корнях *G. repens* выявлено 15 ОТЕ эктомикоризообразователей, относящиеся к IV квартили хотя бы в одном местообитании. Разнообразие ЭкМ грибов выше, чем у ОМ грибов, и доля их в образцах также может быть выше. Эти данные указывают на возможность одновременной колонизации корня *G. repens* как специфичными микобионтами, так и симбионтами ЭкМ. Грибного чехла, характерного для типичной эктомикоризы, на корнях орхидеи не наблюдалось, и механизм взаимодействия остается неясным.

Большинство выявленных таксонов характерны для бореальных и умеренных хвойных лесов, формируя ЭкМ с различными видами сосны и ели. ОТЕ *T. fibrillosa* и *R. vinosa* ранее были выявлены в корнях *G. repens* Московской области (Voronina et al., 2018). *T. fibrillosa* также отмечена в корнях орхидеи *Neottia cordata*. Ареал и исходный материал видов, схожих по последовательности ITS, указывают на способность этих видов формировать микоризные сети, объединяющие хвойные деревья и орхидных общим потоком питательных веществ. Тринадцать из 15 выявленных ОТЕ ранее не были выявлены в корнях орхидных.

Порядок Trechisporales представлен двумя ОТЕ родов *Trechispora* и *Luellia*, характерными для бореальных хвойных лесов. В корнях некоторых орхидных выявляются представители рода *Trechispora* (Huang et al., 2014). Представители порядка Atheliales, помимо ЭкМ, способны формировать АрМ с представителями трибы грушанковых (семейство Ericaceae) (Hynson et al., 2015). ОТЕ представителей этого порядка типичны для бореальных хвойных лесов и формируют ЭкМ преимущественно с *P. abies* и *P. sylvestris* и существенно реже отмечаются в корнях орхидных (Rasmussen et al., 2015). Виды родов *Cortinarius*, *Russula* и *Tomentella* зачастую отмечаются в корнях орхидных, иногда формируя устойчивые ассоциации с некоторыми видами (Girlanda et al., 2006; Barrett et al., 2010; Voronina et al., 2018). Наиболее распространенной ОТЕ является *Tomentella bryophila*, представленная в IV квартили пяти из шести образцов Карачаево-Черкесии.

Таким образом, из всех рассмотренных экологических групп только микобионты ОМ явно тяготеют к корням *G. repens*, тогда как микобионты ЭкМ значительно представлены и в корнях, и в почве. Наибольшую долю в образцах корней составляют микобионты ОМ и ЭкМ. Основными микобионтами *G. repens* являются представители семейства Ceratobasidiaceae, что подтверждает имеющиеся данные по микоризе этого вида. Всего в трех регионах выявлены 5 ОТЕ микобионтов этого семейства, три из которых показаны для *G. repens* впервые. Существенную долю ОТЕ в корнях составляют также микобионты ЭкМ порядков Atheliales,

Russulales, Thelephorales, Agaricales и Trechisporales. Их ОТЕ развиваются более локально: в пределах одной точки к доминирующей кватртили относятся несколько ОТЕ. Наличие микобионтов ОМ в корнях *G. repens* строго зависит от доступности корней хвойных деревьев. Доля микобионтов ОМ и ЭкМ внутри корня *G. repens* взаимосвязаны с обратной корреляцией, что позволяет предположить, что они находятся в антагонистических отношениях. Подытоживая полученные методом метабаркодинга данные, можно выделить основные факторы, влияющие на состав ассоциативной микобиоты корней *G. repens*: доступность хвойных корней, и, как следствие, микобионтов эктомикоризы, и тип леса.

3.3.4 Сообщество грибов-эндофитов в корнях *G. repens*

Помимо микоризообразователей, в корнях *G. repens* выявлены грибы-эндофиты, присутствующие в корнях, не формируя структур для обмена питательными веществами. В данном разделе рассмотрены виды, известные по литературным данным как эндофиты. Эндофиты присутствуют в межклетниках, благодаря чему их обилие в корнях ниже такового микобионтов ОМ и ЭкМ (см. рис. 12), а также не тяготеют к корням *G. repens* и представлены высокими долями в почве (см. рис. 17).

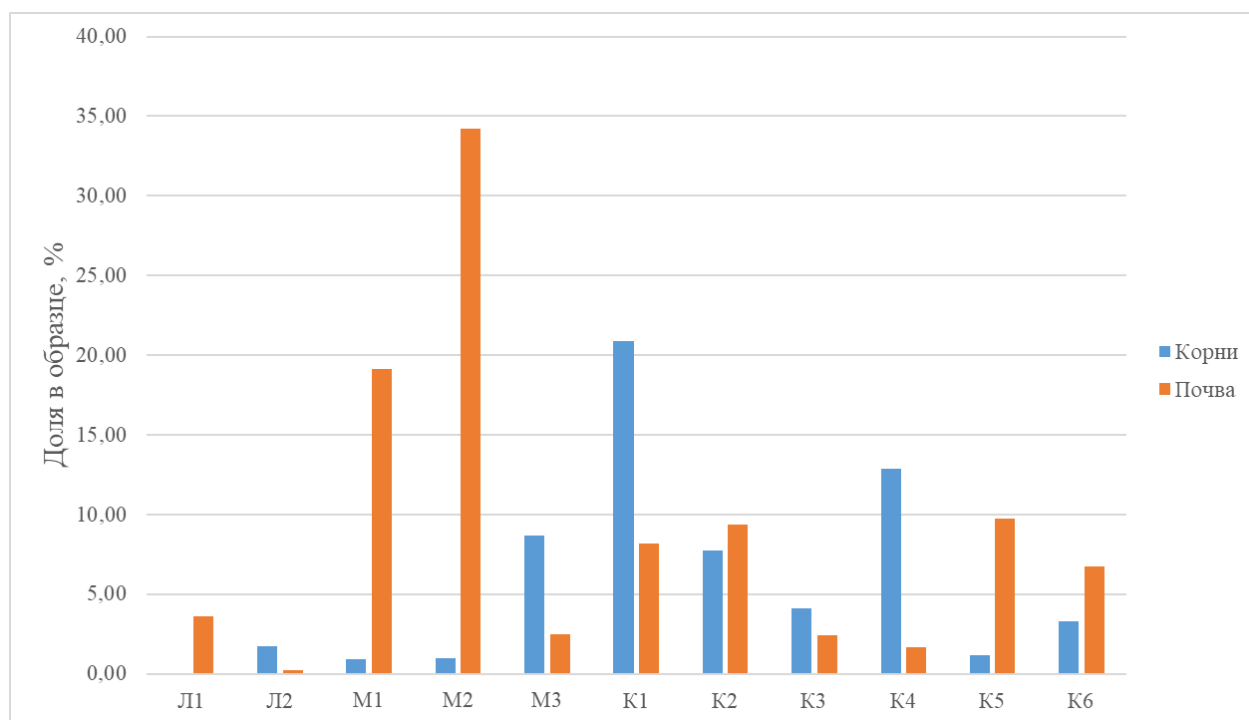


Рисунок 17. Доля ОТЕ эндофитов в исследованных образцах

Высокое обилие эндофитов в почве предполагает их ассоциацию с другими растениями исследуемых местообитаний или сапротрофное существование, что указывает на неспецифичность эндофитов по отношению к растениям-хозяевам.

Выявленные эндофиты IV квартили относятся к группе темных септированных эндофитов (ТСЭ) семейств Herpotrichiellaceae (рода *Cladophialophora* и *Exophiala*) и Hyaloscyphaceae (*Hyaloscypha*). Всего к IV квартили относятся 6 ОТЕ эндофитов этих родов (см. табл. 11).

Таблица 11. Схожие ОТЕ выявленных эндофитов и их местообитания

Номер GenBank	Сходство, %	Исходный материал	Регион
<i>Cladophialophora chaetospora</i>		<i>G. repens</i>	Россия: М, К
MW238045.1	99,4	Почва соснового леса	Германия
GU083205.1	99,0	Почва	США: Аляска
KU839555.1	99,0	<i>Ammophila arenaria</i>	США: Орегон
KU838026.1	99,0	<i>Elymus mollis</i>	США: Орегон
KU839473.1	99,0	<i>Ammophila breviligulata</i>	США: Орегон
EU035403.1	99,0	<i>Phyllostachys bambusoides</i>	Китай
<i>Cladophialophora sp.</i>		<i>G. repens</i>	Россия: Л, М, К
KF617382.1	100,0	<i>Picea mariana</i>	США, Аляска
MK627083.1	99,7	Почва букового леса	Австрия
OW846714.1	99,7	НД	Китай: Тянь-Шань
KC588659.1	99,7	Листовой опад	США: Мичиган
JQ312913.1	99,7	Почва елового леса	Швеция
GU083193.1	99,7	Почва	США: Аляска
<i>Exophiala bonariae</i>		<i>G. repens</i>	Россия: К
KU838213.1	99,7	<i>Elymus mollis</i>	США: Орегон
KU838205.1	99,7	<i>Ammophila breviligulata</i>	США: Орегон
KC243972.1	99,7	<i>Gymnadenia conopsea</i>	Чехия
MW163519.1	99,7	<i>Crocus sativus</i>	Италия
<i>Exophiala equina</i>		<i>G. repens</i>	Россия: К
MT557069.1	98,5	<i>Glycine max</i>	США
MN537135.1	98,5	<i>Heterodera schachtii</i> , цисты	Германия
MG756634.1	98,5	Почва	Китай
KY940486.1	98,5	<i>Dysosma versipellis</i>	Китай: Гуаньси
KU839565.1	98,5	<i>Elymus mollis</i>	США: Орегон

HG935706.1	98,5	<i>Zea mays</i>	Германия
KT203184.1	98,5	<i>Ammophila breviligulata</i>	США: Орегон
KF428675.1	98,5	<i>Populus trichocarpa</i>	США
GU566272.1	98,5	<i>Phalaris arundinacea</i>	Чехия
<i>Exophiala tremulae</i>		<i>G. repens</i>	Россия: К
MK626968.1	100,0	Почва букового леса	Австрия
LT608086.1	100,0	Почва	Германия
KJ188554.1	100,0	<i>Neottia ovata</i>	Чехия
FJ554453.1	100,0	Почва	Канада
KC588620.1	100,0	Почва	США, Мичиган
NM439556.1	100,0	<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	Китай
<i>Hyaloscypha finlandica</i>		<i>G. repens</i>	Россия: Л
KJ817298.1	99,7	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Китай: Дасиньянлинь
AB543057.1	99,3	Почва соснового леса	Канада: Альберта
MK883688.1	99,0	<i>Pinus</i> sp.	Южная Корея
KM023196.1	98,6	<i>Pinus</i> sp.	Аргентина
EU726297.1	98,6	<i>Pinus ponderosa</i>	США: Калифорния

Референсы выявленных ОТЕ родов *Cladophialophora*, *Exophiala* и *Metapochonia* найдены как в почве, так и в ассоциации с корнями растений, по большей части злаков и ЭкМ деревьев. ОТЕ *E. bonariae* и *E. tremulae* выявлены в корнях орхидных: *G. conopsea* и *N. ovata* соответственно.

Референсы ОТЕ *Hyaloscypha finlandica* больше тяготеют к сосновым лесам и выявляются в почве и корнях растений. *H. finlandica* является ТСЭ, способным формировать ЭрМ и ЭкМ. Для этого вида характерна ассоциация с хвойными породами, в частности с соснами. Другие представители этого рода: *H. hepaticicola* и *H. variabilis*, выявлены в IV квартили образцов почвы Ленинградской и Московской областей, однако не выявлены в корнях *G. repens*. Эти данные не позволяют предположить колонизацию корня и существенное влияние представителей *Hyaloscypha* spp. на физиологию *G. repens*.

Таким образом, выявленные эндофиты имеют широкий спектр растений-хозяев и, в частности, способны колонизировать корни орхидных. ТСЭ семейства Herpotrichiellaceae встречаются повсеместно в корнях растений без признаков поражения и повышают

стрессоустойчивость и доступность питательных веществ. Предполагается, что эволюционно эндифиты являются переходной стадией между сапротрофами и микоризообразователями. Некоторые ТСЭ способны формировать пелотоны в корнях орхидных *in vitro* (Hou, Guo, 2009), однако механизм взаимодействия их с грибами других экологических групп, колонизирующими корни растений, неизвестен (Ruotsalainen et al., 2022). Несмотря на то, что ТСЭ встречаются в образцах корней *G. repens* в IV квартили, доля их существенно меньше по сравнению с микобионтами ОМ и ЭкМ, что не позволяет предположить формирование ими пелотонов. Выявление ТСЭ родов *Cladophialophora* и *Exophiala* в корнях *G. repens* свидетельствует о влиянии их на физиологию растения, однако для более точного установления их роли требуются дополнительные эксперименты.

3.3.5 Выявленные представители класса Archaeorhizomycetes

Особый интерес представляет присутствие в изученных образцах последовательностей представителей класса Archaeorhizomycetes (подотдел Taphrinomycotina, Ascomycota) (Bibikov et al., 2023). Класс был описан в 2011 году, и на данный момент включает всего два вида рода *Archaeorhizomyces*: *A. borealis* и *A. finlayi*, выявленных в корнях сосны, не формируя структур микоризы (Rosling et al., 2011; Menkis et al., 2014). Последовательности этих грибов часто выявляются молекулярными методами в образцах корней и свободной почвы. Учитывая недостаточную изученность группы и высокую долю последовательностей ее представителей в природных образцах, крайне важны исследования, предполагающие на уровне ОТЕ экологию и распространенность класса Archaeorhizomycetes.

В общей сложности выявлены 4 ОТЕ, относящиеся к классу Archaeorhizomycetes. Последовательностям присвоены индексы A1, A8, A10 и A12. Для двух ОТЕ установлена принадлежность к роду *Archaeorhizomyces*, для одной ОТЕ установлена принадлежность к виду *A. borealis*. Последовательности депонированы в базу данных GenBank (см. табл. 12).

Таблица 12. Таксономическая принадлежность выявленных ОТЕ представителей класса Archaeorhizomycetes и идентификаторы GenBank.

Номер ОТЕ	Вид	Номер GenBank	Регион	Квартиль
A1	<i>Archaeorhizomyces</i> sp. 1	ON819605.1	M1, 2, 3	IV
A8	<i>Archaeorhizomyces borealis</i>	ON714642.1	M2, 3	III–IV
A10	<i>Archaeorhizomycetes</i> gen. sp. 10	ON819606.1	M1	III–IV
A12	<i>Archaeorhizomycetes</i> gen. sp. 12	ON819607.1	M3	III–IV
			K2, 3	I

На данный момент в базе данных GenBank имеются 7 последовательностей Archaeorhizomycetes, выявленных на территории России. 5 из них найдены в Московской

области (ЗБС МГУ), в том числе 4 получены в ходе данной работы, одна последовательность, относящаяся к виду *Archaeorhizomyces finlayi*, известна для Ленинградской области (Нижнесвирский заповедник) и одна (*Archaeorhizomyces* sp.) – для Республики Якутия (район поселка Чокурдах). Все ОТЕ обнаружены в корнях хвойных пород или в почве хвойного леса: в Московской области сосны и ели, в Ленинградской области – сосны, в Якутии – лиственницы. Последовательности A1, A8, A10 и A12 также выявлены в корнях *G. repens*, ОТЕ A1 и A8 – в почве хвойного леса.

С целью установления глобального распространения выявленных ОТЕ были изучены референсные выявленным последовательности с перекрытием и сходством 100% по базе данных GenBank.

ОТЕ *Archaeorhizomyces* sp. A1 имеет 7 референсных последовательностей, удовлетворяющих условиям. Все последовательности выявлены на территории Европы (Финляндия, Швеция, Нидерланды, Московская область) в хвойных лесах. ОТЕ обнаруживается как в корнях хвойных деревьев: сосны и ели, так и других растений, типичных для хвойного леса: *Goodyera repens*, *Vaccinium myrtillus*. Вид *A. borealis* A8 имеет 24 подходящих референса. Вид выявляется на территории северной Московской области, Литвы, Шотландии и Австрии в корнях *Pinus sylvestris*, в Португалии в корнях *Pinus pinaster*, в Японии в корнях *Pinus densiflora* и *Castanopsis cuspidata*, в китайских провинциях Гуйчжоу, Цзянсу и Хунань в корнях *Pinus* sp., *P. tabulaeformis* и *P. massoniana* соответственно. Для ОТЕ A10 и A12 не найдено референсных последовательностей со сходством >97%. По данным референсных последовательностей, выявленные представители класса *Archaeorhizomycetes* тяготеют к ассоциации с различными видами рода *Pinus*. Это объясняет низкую представленность ОТЕ этого класса в образцах из Карачаево-Черкесии.

С целью установления родства таксонов, соответствующих выявленным ОТЕ, с известными для класса *Archaeorhizomycetes* на территории России, был проведен филогенетический анализ и построена кладограмма по методу максимального правдоподобия с 1000-кратной проверкой bootstrap-анализом на основе последовательностей, выравненных по алгоритму MAFFT. В анализ также была включена последовательность вида *A. borealis* (NR_126144.2), выявленная на территории Литвы (Menkis et al., 2014). В качестве внешней группы были взяты последовательности представителей классов подотдела *Taphrinomycotina*: *Neoelectromycetes* (*Neoelecta vitellina* FJ171855.1), *Taphrinomycetes* (*Taphrina carpini* NR_119488.1), *Schizosaccharomycetes* (*Schizosaccharomyces pombe* OW983270.1) и *Pneumocystidomycetes* (*Pneumocystis carinii* U07226.1) (см. рис. 18).

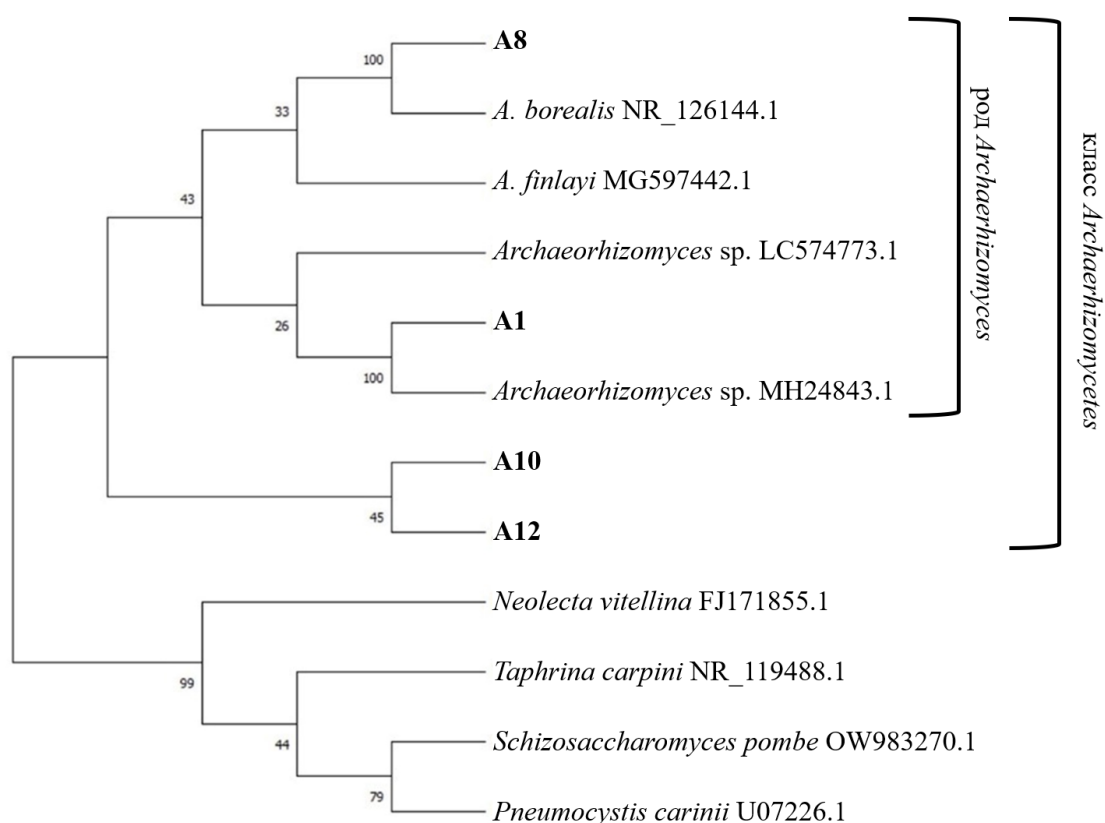


Рисунок 18. Филогенетическая связь выявленных ОТЕ с известными видами *Archaeorhizomyces* и видами, выявленными на территории России. Последовательности, выявленные в данном исследовании, отмечены полужирным шрифтом

Анализ показал, что исследуемые последовательности принадлежат к классу *Archaeorhizomycetes*, образуя монофилетичную группу внутри подотдела *Taphrinomycotina*. Последовательность A8 совпадает с последовательностью *A. borealis* (NR_126144.2). Находка этого вида является первой задокументированной на территории России (Bibikov et al., 2023). Сестринской кладой к *A. borealis* является вид *A. finlayi*, обнаруженный на территории Ленинградской области. Последовательность A1 идентична ОТЕ *Archaeorhizomyces* sp. (MH248043.1), ранее описанной для Московской области (Voronina et al. 2018), и близка *Archaeorhizomyces* sp. (LC574773.1, Якутия). ОТЕ A10 и A12 образуют отдельную от остальных исследуемых последовательностей кладу на филогенетическом древе.

Последовательность A1 на основе референсов отнесена к неидентифицированному виду рода *Archaeorhizomyces*, A8 – к виду *A. borealis*, а последовательности A10 и A12, образующие отдельную кладу, могут быть идентифицированы только до ранга класса *Archaeorhizomycetes* и предположительно относятся к другому роду.

Находка в изучаемых местообитаниях последовательностей класса Archaeorhizomycetes является крайне важным с точки зрения выявления скрытого биоразнообразия, а также для последующего описания видов этого класса. Высокая представленность ОТЕ А1 свидетельствует о важной экологической роли вида, соответствующего этой ОТЕ, в функционировании экосистем сосновых лесов.

3.3.6 Микобиота корней *G. repens*, выявленная методом чистых культур

Путем посева корней получены чистые культуры, относящиеся к 25 видам отделов Mucoromycota, Ascomycota и Basidiomycota (см. табл. 13).

Таблица 13. Характеристика изолятов грибов, выделенных из корней *G. gerens* на территории Звенигородской биостанции (М), Выборгского района (Л) и Тебердинского заповедника (К).

*НД – нет данных, определение проводилось по морфологическим признакам.

Вид	Регион	В почве	Референс	Экология	Источники
<i>Acanthomyces lecanii</i>	К	–	НД*	Эндифит, энтомопатоген	Soltani et al., 2022, Nicoletti, 2020
<i>Trichoderma harzianum</i>	М	+	НД	Эндифит, фитопатоген, сапрофит	Bailey, 2013, Vinala et al., 2008, Zheng et al., 2021
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	М, Л	+	НД		
<i>Trichoderma viride</i>	К, М	+	НД		
<i>Chaetomium globosum</i>	М	–	MG098250.1	Эндифит	Khan et al., 2012
<i>Colletotrichum truncatum</i>	М	+	MN248046.1	Эндифит, фитопатоген	Sharma et al., 2011, Ranathunga, 2011
<i>Microrhizus chaitanum</i>	К	–	НД	Сапрофит	Vabnova et al., 2020
<i>Metarhizonia bulbillosa</i>	М	–	MN871512.1	Эндифит, нематофаг	Gielep, 2021, Neimonsalo et al., 2017
<i>Metasordaryces chlamydosporia</i>	М	+	НД	Эндифит, энтомопатоген	Kerler et al., 2012, Lartiba et al., 2015
<i>Xylaria longipes</i>	К	–	MN219592.1	Эндифит, ксилотроф	Brügger, Pettini, 1992, Rogers, 1983
<i>Geotrichum candidum</i>	Л	–	НД	Эндифит, сапрофит	Carlmichael, 1957, George et al., 2021
<i>Epicoccum nigrum</i>	К	–	MT573480.1	Эндифит, фитопатоген	Mari et al., 2007, Reygen et al., 2017
<i>Diaporthe eres</i>	М	–	MZ046054.1	Эндифит, фитопатоген	Thomidis, 2009, Abramczyk et al., 2022
<i>Penicillium thomii</i>	Л	–	НД	Эндифит, сапрофит	Urooj et al., 2018, Domsch et al., 1980

Таблица 13 (продолжение).

Вид	Регион	В почве	Референс	Экология	Источники
<i>Umbelopsis isbellina</i>	М	+	НД	Сапрофит	Domsch et al., 1980
<i>Absidia cylindrospora</i>	К, М, Л	+	НД		
<i>Absidia glauca</i>	Л	+	НД		
<i>Absidia heterospora</i>	М	+	НД		
<i>Mucor circinelloides</i>	Л	–	НД		
<i>Mucor plumbeus</i>	К	–	НД		
<i>Umbelopsis ramanniana</i>	К, М, Л	+	НД		
<i>Umbelopsis vinacea</i>	К	–	НД		
<i>Mortierella verticillata</i>	К, М, Л	+	НД		
<i>Mortierella zonata</i>	К, Л	–	НД		
<i>Ceratobasidium</i> sp3.	М	–	МН248045.1	Микоризообразователь	Смит, Рид, 2012

Четырнадцать выделенных культур относятся к отделу Ascomycota. Класс Sordariomycetes представлен 10 видами порядков Hypocreales (роды *Akanthomyces*, *Metacordyceps*, *Metapochonia*, *Trichoderma*), Sordariales (*Chaetomium*), Glomerellales (*Colletotrichum*), Microascales (*Microascus*) и Xylariales (*Xylaria*). Класс Saccharomycetes представлен видом *Geotrichum candidum* (порядок Saccharomycetales). Класс Dothideomycetes представлен двумя видами: *Epicoccum nigrum* (порядок Pleosporales) и *Diaporthe eres* (порядок Diaporthales). Один вид – *Penicillium thomii*, относится к классу Eurotiomycetes (порядок Eurotiales).

К отделу Mucoromycota относятся 10 выявленных видов из 3 классов: Mortierellomycetes (*Mortierella* spp.), Mucoromycetes (*Absidia* spp., *Mucor* spp.) и Umbelopsidomycetes (*Umbelopsis* spp.).

Два изолята *Ceratobasidium* sp. относятся к отделу Basidiomycota и будут описаны подробно в разделах 3.3.3 и 3.5, посвященным выявленным симбионтам ОМ.

В общей сложности из образцов корней *G. repens* с территории Московской области выявлено 14 видов, из Ленинградской области – 9 видов, из Карачаево-Черкесии – 11 видов.

Три вида выявлены в корнях *G. repens* всех трех местообитаний: *A. cylindrospora*, *U. ramanniana* и *M. verticillata*. Вид *T. longibrachiatum* встречается в Московской и Ленинградской областях, *T. viride* – в Карачаево-Черкесии и Московской области, *M. zonata* – в Ленинградской области и Карачаево-Черкесии. Остальные виды специфичны для одного из трех регионов (см. рис. 19).



Рисунок 19. Число общих и специфичных видов грибов, ассоциированных с корнями *G. repens* трех регионов

В контрольной почве присутствуют 11 выявленных видов (см. Приложение 1).

Из 25 выявленных видов, 13 ранее были отмечены как эндофиты различных растений, 4 – как фитопатогены, 15 – как сапротрофы и один – как симбионт ОМ.

Посев почвы, проведенный с целью выявления изолятов, неспецифичных для корней *G. repens*, выявил виды с широкой экологической амплитудой: *Trichoderma* spp., *C. truncatum*, *M. chamydosporia*, *Absidia* spp., *Umbelopsis* spp., *Mortierella verticillata*.

Из 14 видов, не выявленных в образцах почвы, 8 отмечались ранее как эндофиты, 1 – как симбионт ОМ и 5 как сапротрофы. В качестве эндофитов орхидных ранее отмечали *Trichoderma* spp. (Morgan et al., 2022), *C. globosum* (Adit et al., 2022) и *E. nigrum* (Vaz et al., 2009).

В общей сложности, в качестве эндофитов орхидных могут существовать 9 видов, не обнаруженных в почве и отмечавшихся в ассоциации с растениями: *A. lecanii*, *M. chartarum*, *X. longipes*, *E. nigrum* в Карачаево-Черкесии, *C. globosum*, *M. bulbillosa*, *D. eres* в Московской области и *P. thomii*, *G. candidum* в Ленинградской области. Выявленные виды ранее не отмечены в ассоциации с орхидными за исключением *C. globosum* и *E. nigrum*. Выявленные виды эндофитов обладают широким спектром растений-хозяев и неспецифичны для орхидных.

Таким образом, состав грибного сообщества, ассоциированного с корнями *G. repens*, изучен с использованием двух подходов: культурального и метагеномного. Из 25 видов, выявленных в корнях *G. repens* культуральным методом, 11 были также выявлены метагеномным методом: *Umbelopsis isabellina*, *U. ramanniana*, *U. vinacea*, *Mortierella verticillata*, *M. zonata*, *Trichoderma viride*, *Chaetomium globosum*, *Colletotrichum truncatum*, *Metapochonia bulbillosa*, *Penicillium thomii* и *Ceratobasidium* sp3. Неполное сходство (44%) объясняется косвенностью данных полученных культуральным методом: виды, присутствующие в образце в виде спор, способны прорасти в культуру, однако не фиксируются метагеномным методом.

Несмотря на то, что микориза *G. repens* является объектом исследований на протяжении 80 лет (Downie, 1943), данные по структуре ассоциированного грибного сообщества и разнообразию микобионтов нельзя назвать исчерпывающими. В результате обширной работы Shefferson et al., 2010, посвященной биоразнообразию микобионтов различных представителей рода *Goodyera*, в ассоциации с популяцией *G. repens*, произрастающей в штате Вирджиния (США), были выявлены два представителя семейства Ceratobasidiaceae и не было выявлено представителей других порядков микоризообразующих базидиальных грибов. В работе Voronina et al., 2018, посвященной изучению биоразнообразию микобионтов и эндофитов *G. repens* на территории Звенигородской биостанции МГУ, была выявлена последовательность

Ceratobasidium sp., идентичная последовательности *Ceratobasidium* sp3, выявленной в данной работе, а также других потенциальных микобионтов ОМ порядков Cantharellales, Russulales и Thelephorales. В общей сложности, в работе Voronina et al., 2018 методом прямого секвенирования корней *G. repens* выявлено 13 последовательностей грибов, из которых 9 также было выявлено в данной работе. Неполное совпадение биоразнообразия может объясняться различной методологией исследования. Таким образом, применение в данной работе метода метабаркодинга позволило получить полные данные по разнообразию микобионтов, эндофитов и структуре ассоциативного грибного сообщества корней *G. repens* в целом.

3.3.7 Сравнение ассоциированной микобиоты *Goodyera repens* и представителей трибы *Pyroleae* (Ericaceae)

С целью исследования таксономической специфичности микобиоты было проведено сравнение грибного сообщества, выявленного методом метабаркодинга в корнях *G. repens* на территории Звенигородской биостанции, с микобиотой представителей трибы грушанковые (*Pyroleae*), произрастающих на той же территории, выявленной методом чистых культур и прямым секвенированием корней. Для исследования взяты данные по микобиоте трех представителей грушанковых: *Orthilia secunda*, *Pyrola media* и *P. rotundifolia* (Малышева и др., 2017).

Триба *Pyroleae* относится к семейству *Ericaceae*, и ее представители, подобно орхидным, являются частичными микотрофами, но формируют микоризу с представителями других таксономических групп. Помимо схожего трофического статуса, конвергентное сходство грушанковых и орхидных отражается в формировании пылевидных семян (Hashimoto et al., 2012). Помимо упомянутых сходств, *O. secunda*, *P. media*, *P. rotundifolia* и *G. repens* произрастают в схожих местообитаниях, что делает интересным сравнение их микобиоты с орхидными.

Все в корнях представителей трибы *Pyroleae* выявлено 44 вида грибов, в корнях *G. repens* – 83 вида. При сравнении видового состава грибов, выявленных в корнях изучаемых растений, было выявлено 5 видов, присутствующих одновременно в корнях *G. repens* и представителей трибы *Pyroleae*: микобионты эктомикоризы *Russula laricina* выявлены в корнях всех четырех исследуемых видов, микобионты эктомикоризы *Luellia recondita*, *Piloderma sphaerosporum* и *Tylospora fibrillosa*, а также сапротроф *Mycena cinerella* выявлены в корнях *G. repens* и *O. secunda*. Таким образом, полученные данные позволяют предположить универсальность выявленных микобионтов и их способность формировать микоризные сети как с орхидными, так и с грушанковыми.

3.4 Антимикробная активность изолятов грибов

С целью выявления изолятов, способных продуцировать биологически активные вещества, а также для определения конкурентоспособности выявленных эндофитов и микобионтов были поставлены эксперименты по анализу антимикробной активности твердых культур, культуральной жидкости (КЖ) и экстрактов культур.

Измерение активности изолятов на агаризованной среде проводилось для всех культур ассоциированных грибов. Для культур, показавших высокую активность против одной или более тест-культур или выраженную и высокую активность против трех или более культур, также была проверена активность культуральной жидкости. Активность экстрактов проверена для изолятов из корней *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis*, а также для изолята *Ceratobasidium* sp3.

Ранжирование диаметра зоны подавления проводилось следующим образом: ≤ 6 мм – слабая активность, 6–14 мм – заметная активность, 14–20 мм – выраженная активность, ≥ 20 мм – высокая активность. Положительный контроль во всех случаях показывает высокую активность.

Всего на антибиотическую активность проанализировано 54 изолята. Все изоляты протестированы на агаризованной среде против тест-культур *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и *Aspergillus niger*. Девять изолятов, показавших наиболее высокую активность, культивированы в жидкой среде, и их КЖ протестирована на активность против тех же культур. Кроме того, из КЖ семи изолятов, выделенных из корней *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis*, получены экстракты, проанализированные на активность против культур *B. subtilis*, *E. coli*, *C. albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Средние значения диаметра зоны подавления культуральной жидкости и экстрактов приведены в Приложении 2.

На агаризованной среде 15 из 54 исследованных изолятов не показали активности против исследуемых тест-культур. Против *B. subtilis* показали активность 19 изолятов, против *C. albicans* – 28 изолятов и против *A. niger* – 8 изолятов (см. рис. 20). Против *E. coli* показал активность один изолят *Umbelopsis isabellina* (диаметр зоны $22,6 \pm 0,8$ мм).

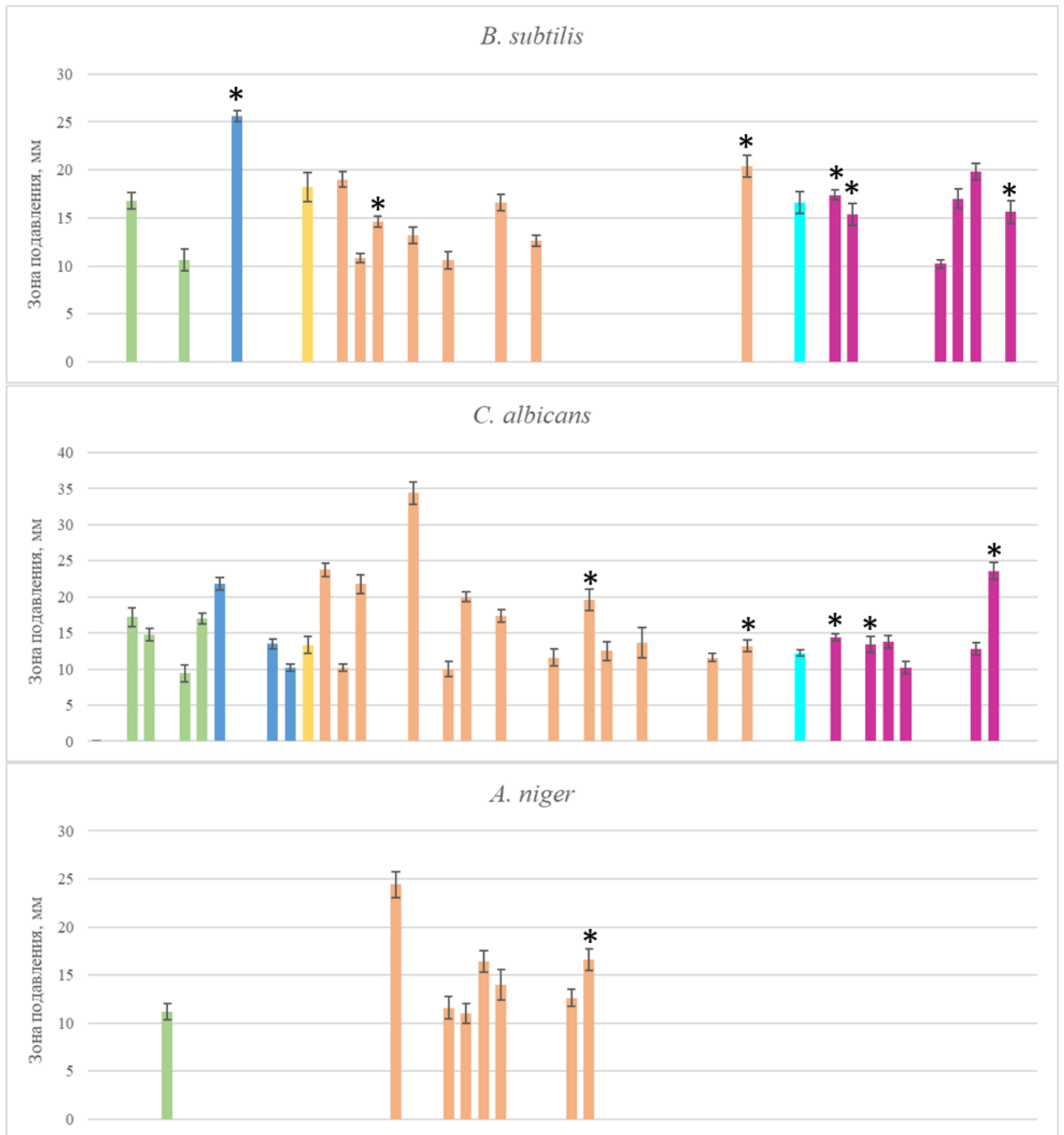


Рисунок 20. Диаметр зон подавления тест-культур агаровыми блоками исследуемых изолятов. Зеленые столбцы – Dothideomycetes, синие – Eurotiomycetes, желтый – Leotiomyces (*S. circinatum*), оранжевые – Sordariomycetes, сине-зеленый – Basidiomycota (*Ceratobasidium* sp3), фиолетовые – Mucoromycota. Столбцы, соответствующие активности почвенных изолятов, отмечены знаками «*».

Специфичность антимикробной активности прослеживается на штаммовом уровне. Например, из четырех изолятов *Fusarium oxysporum*, выделенных из разных местообитаний и

идентичные по последовательности ITS, три показали активность против *B. subtilis*, два – против *C. albicans* и один – против *A. niger*.

Существенная доля эндофитных и почвенных изолятов показывает заметную и выраженную активность против грамположительной бактерии *B. subtilis*. Высокой активностью обладают изоляты *Penicillium chrysogenum* и *Tolypocladium album*, выявленные в почве куртины *G. repens* (зоны $25,6 \pm 0,5$ мм и $20,4 \pm 1,1$ мм соответственно). Способность почвенных грибов подавлять рост бактерий свидетельствует о большем обилии бактерий в почве по сравнению с корнем и, как следствие, повышенной конкуренции, обуславливающей необходимость в антибактериальных веществах. Активность против *E. coli* показал один изолят *Umbelopsis isabellina*, выявленный в почве под куртиной *G. repens* (диаметр зоны $22,6 \pm 0,8$ мм). Неспособность большинства изолятов подавлять рост *E. coli* свидетельствует о низком обилии грамотрицательных бактерий в изучаемых местообитаниях.

Активностью против культуры *C. albicans* обладает большинство выделенных изолятов, из них высокой активностью обладают четыре эндофитных: *Aspergillus aculeatus*, *Neopestalotiopsis clavispora*, два изолята *Fusarium oxysporum* и один почвенный – *Umbelopsis isabellina*. Как аскомицеты, так и базидиомицеты с дрожжевым образом жизни выявляются в корнях орхидных (Vaz et al., 2009), что может обуславливать необходимость грибов подавлять рост дрожжей в корнях орхидных.

Способностью подавлять рост *A. niger* обладают восемь изолятов, среди которых *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* и шесть изолятов рода *Trichoderma*. Многие виды рода *Trichoderma* являются факультативными микопатогенами, способными подавлять рост грибов путем выделения ферментов и вторичных метаболитов (Wei et al., 1974; Küçük et al., 2004). Изоляты *F. oxysporum* и *C. lunata* являются наиболее распространенными эндофитами орхидных на территории кампуса МГУ-ППИ в Шэньчжэне (см. раздел 3.2). Их способность подавлять рост мицелиальных грибов объясняет их высокое обилие и инвазивные свойства во вторичном местообитании.

Таким образом, исследованные изоляты обладают широким спектром антимикробных активностей и способны подавлять рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов. Значительная часть изолятов обладает активностью против грамположительных бактерий и дрожжей. Против мицелиальных грибов активность показали потенциально микопатогенные изоляты рода *Trichoderma*, а также *F. oxysporum* и *C. lunata*, широко распространенные как эндофиты орхидных на территории кампуса МГУ-ППИ.

Способность подавлять рост мицелиальных грибов является конкурентным преимуществом, обуславливающим развитие этих грибов.

Микобионты ОМ *Ceratobasidium* sp1 и 2 не обладают способностью подавлять рост исследуемых тест-культур. Предположительно, это связано со специфичностью экологической ниши корней орхидных во вторичных местообитаниях. Отсутствие конкуренции со стороны других микобионтов объясняет отсутствие необходимости в антимикробных веществах. С другой стороны, микобионт *G. repens* *Ceratobasidium* sp3 обладает высокой активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий и дрожжей. Высокое обилие потенциальных микобионтов ОМ и ЭкМ, эндофитов и дрожжей в корнях *G. repens* указывает на высокую конкуренцию, обуславливающую необходимость в повышении конкурентоспособности.

3.5 Характеристика изолятов *Ceratobasidium*

Данный раздел посвящен филогении и специфичности представителей семейства *Ceratobasidiaceae*, выявленных при помощи метода чистых культур и метагеномного анализа. С целью выявления таксономической приуроченности микобионтов семейства *Ceratobasidiaceae* к определенным видам орхидных и определения специфичности ОМ на примере исследуемых объектов изучены таксономические связи по участку ITS2 изолятов и имеющихся в открытом доступе последовательностей с привязкой к виду растения-хозяина и месту произрастания. Приуроченность изучена на примере подтрибы *Goodyerinae* семейства *Orchidaceae*.

В общей сложности получено 3 культуры представителей рода *Ceratobasidium* из корней *Z. strateumatica*, *S. hongkongensis* и *G. repens* (Московская область). Изоляты идентифицированы по последовательностям ITS, последовательности загружены в базу данных GenBank (см. табл. 14). Анастомозная группа по возможности определена по наиболее схожей доступной последовательности.

Таблица 14. Изоляты *Ceratobasidium*, выделенные в культуру

Таксон	Растение-хозяин	АГ	Номер GenBank
<i>Ceratobasidium</i> sp1	<i>Z. strateumatica</i>	F	OP782646.1
<i>Ceratobasidium</i> sp2	<i>S. hongkongensis</i>	L	OP782647.1
<i>Ceratobasidium</i> sp3	<i>G. repens</i>	НД	OP782630.1

3.5.1 Анализ схожих последовательностей

В связи с неустановленным таксономическим положением экологическая роль изолятов предполагалась исходя из материала, из которого выделены референсные изоляты, схожие с

изучаемыми по участку ITS не менее чем на 97% по данным GenBank (см. табл. 15). Референсные последовательности *Ceratobasidium* sp3 выявляются в ассоциации с различными орхидными и в почве хвойных лесов. Экология *Ceratobasidium* sp3 подробно обсуждается в разделе 3.3.3 вместе с другими ОТЕ, выявленными методом метабаркодинга.

Таблица 15. Референсные выявленным культурам *Ceratobasidium* последовательности со сходством выше 97%

Номер GenBank	Сходство, %	Материал	Регион
<i>Ceratobasidium</i> sp1		<i>Z. strateumatica</i>	Шэньчжэнь
MT874891.1	98,4	<i>Hesperostipa comata</i> , корни	Небраска, США
KX468817.1, KX468806.1, KX468811.1	98,5	Почва	Бразилия
<i>Ceratobasidium</i> sp2		<i>S. hongkongensis</i>	Шэньчжэнь
AF354093.1	99,8	Почва	Япония
FJ515884.1	99,5		Китай
EU273525.1	99,4	НД	НД
HG995867.1	98,9	Почва	Бенин

Наиболее близкие к *Ceratobasidium* sp1 последовательности выявлены в зараженных корнях злака *Hesperostipa comata* в США (Kodati et al., 2021) и во вспахиваемых почвах бразильских серрадо (Blanco et al., 2018). Выявление последовательностей в нарушенных местообитаниях и в прериях свидетельствует об инвазивности этого предполагаемого вида, что обуславливает его выявление в корнях *Z. strateumatica* на территории кампуса МГУ-ППИ. Обе референсные последовательности соответствуют АГ-F. Предположение анастомозной группы возможно благодаря неоднократно показанной монофилетичности групп одной АГ (Yang et al., 2015; Yarmeeva et al., 2021). Изоляты АГ-F выявляются как патогены растений различных таксономических групп, однако являются слабо патогенными по сравнению с другими АГ (Eken, Dermici, 2004; Aiello et al., 2012). Изоляты этой АГ имеют потенциал к биоконтролю заболеваний растений, вызываемых многоядерными изолятами, так как формируют полисахаридный чехол, защищая корень растения-хозяина механически (Maculewicz, 2015). Изоляты АГ-F редко отмечаются в ассоциации с орхидными, существуют единичные сообщения (Haryuni, 2013). Основываясь на данных о схожих последовательностях и изолятах этой АГ можно предположить, что изолят *Ceratobasidium* sp1 является гемибиотрофом, способным вызывать патогенез растений и формировать ОМ с видами-генералистами, давая им преимущество при заселении антропогенных местообитаний.

Референсные последовательности *Ceratobasidium* sp2 выявлены в почвах Японии, Китая и Бенина. Широкий ареал этого вида предполагает его генерализм и, как следствие, способность к формированию ОМ в нарушенных местообитаниях, что объясняет его выявление в корнях *S. hongkongensis* на территории кампуса МГУ-ППИ. Референсные последовательности соответствуют АГ-L. Другие изоляты этой АГ, как и в случае АГ-F, способны вызывать патогенез (Chen et al., 2021), а также выявляются в ОМ и способны стимулировать прорастание семян орхидных (Mashuhara et al., 1993).

Таким образом, выявленные изоляты *Ceratobasidium*, ассоциированные с корнями *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis* на территории кампуса МГУ-ППИ в Шэньчжэне, вероятнее всего являются гембиотрофами, способными как к фитопатогенному, так и к симбиотическому образу жизни. Произрастание изучаемых видов орхидных во вторичном антропогенном местообитании объясняет их ассоциацию с изолятами, не характерными для ОМ, дающими им экологическое преимущество и обеспечивающими высокую выживаемость.

3.5.2 Ядерный статус

Наличие чистых культур микобионтов позволяет определить косвенные признаки, уточняющие экологическую роль изолятов. Для уточнения экологической роли выявленных микобионтов было определено число ядер в их клетках.

Число ядер в клетках изолятов было подсчитано на препаратах, окрашенных раствором DAPI (см. рис. 21).

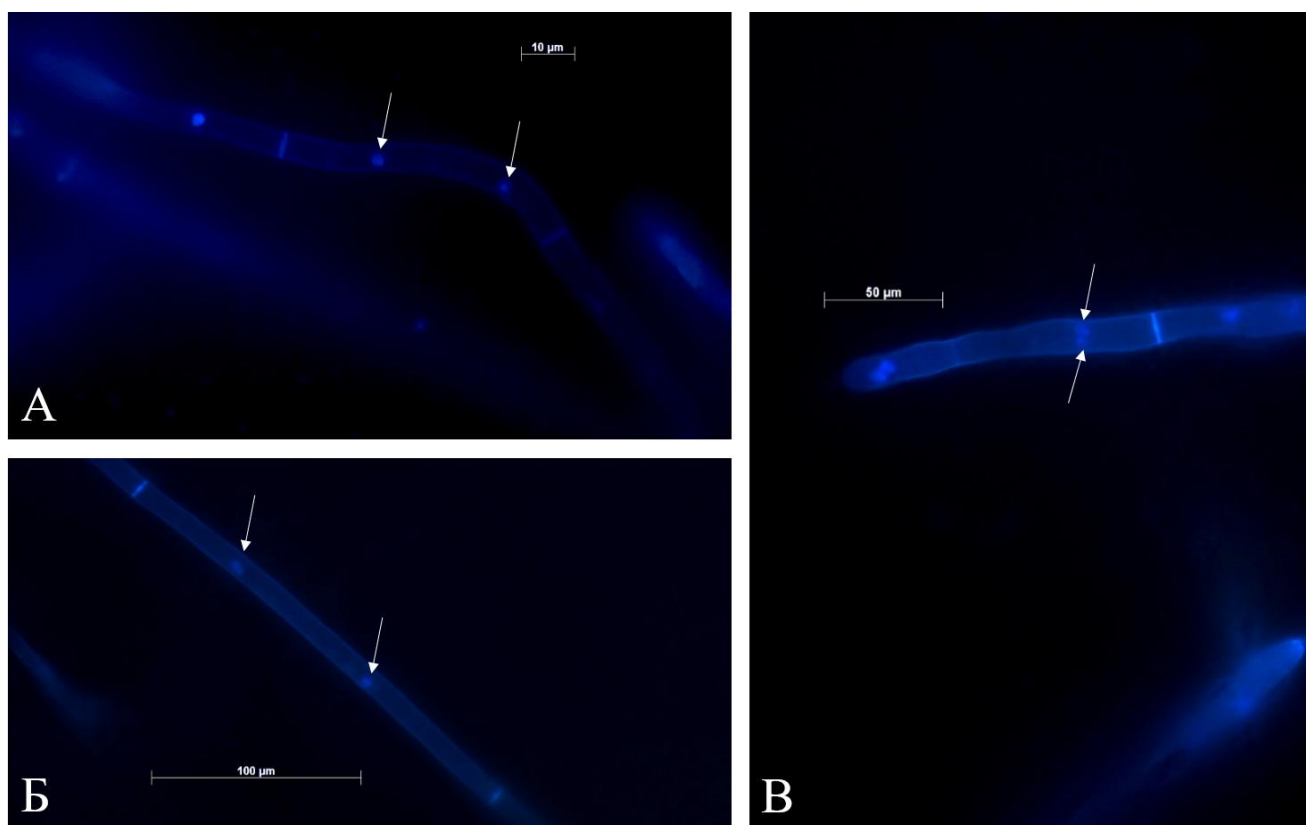


Рисунок 21. Окрашенные DAPI гифы изолятов *Ceratobasidium*: А – *Ceratobasidium* sp1, Б – *Ceratobasidium* sp2, В – *Ceratobasidium* sp3. Стрелки указывают на ядра

Все выявленные изоляты двуядерные. Несмотря на отсутствие четкой корреляции между числом ядер и экологическим статусом, большинство данных свидетельствуют о склонности двуядерных изолятов к симбиотическому или гемибiotрофному образу жизни, что позволяет предположить способность выявленных изолятов к формированию ОМ.

3.5.3 Фитопатогенность изолятов

Способность изолятов к патогенезу проанализирована во влажной камере на ломтиках клубней картофеля с целью определения экологического статуса изолятов. Для сравнения были взяты четыре изолята патогенов картофеля, выделенные из пораженных клубней и побегов: *Rhizoctonia solani* – анаморфы *Thanatephorus cucumeris* (изоляты R156, K3-3) и *Ceratobasidium* sp. (Изоляты P1 и P2) и находящиеся в коллекции культур кафедры микологии и альгологии (см. табл. 16). Схожие последовательности патогенных изолятов также выявлены в растениях с признаками патогенеза.

Таблица 16. Характеристика изолятов Ceratobasidiaceae

	R156	K3-3	P1	P2	C sp1	C sp2	C sp3
Регион	Московская	Смоленская	Астраханская обл.		Шэньчжэнь		Московская

	обл.	обл.			обл.	
Таксон	R. solani (T. cucumeris)		Ceratobasidium sp.			
Материал	Картофель: клубень		Картофель: побег	Zs	Sh	Gr
АГ	АГ 3		АГ К	АГ F	АГ L	НД
Ядра	>2		2			

Способность изолятов вызывать патогенез исследована путем инокуляции ломтиков картофеля и инкубации во влажной камере при 12° в течение 7 суток с последующим доращиванием в течение 7 суток при 24°. Способность изолятов вызывать патогенез выражалась как диаметр зоны роста культуры (см. рис. 22).

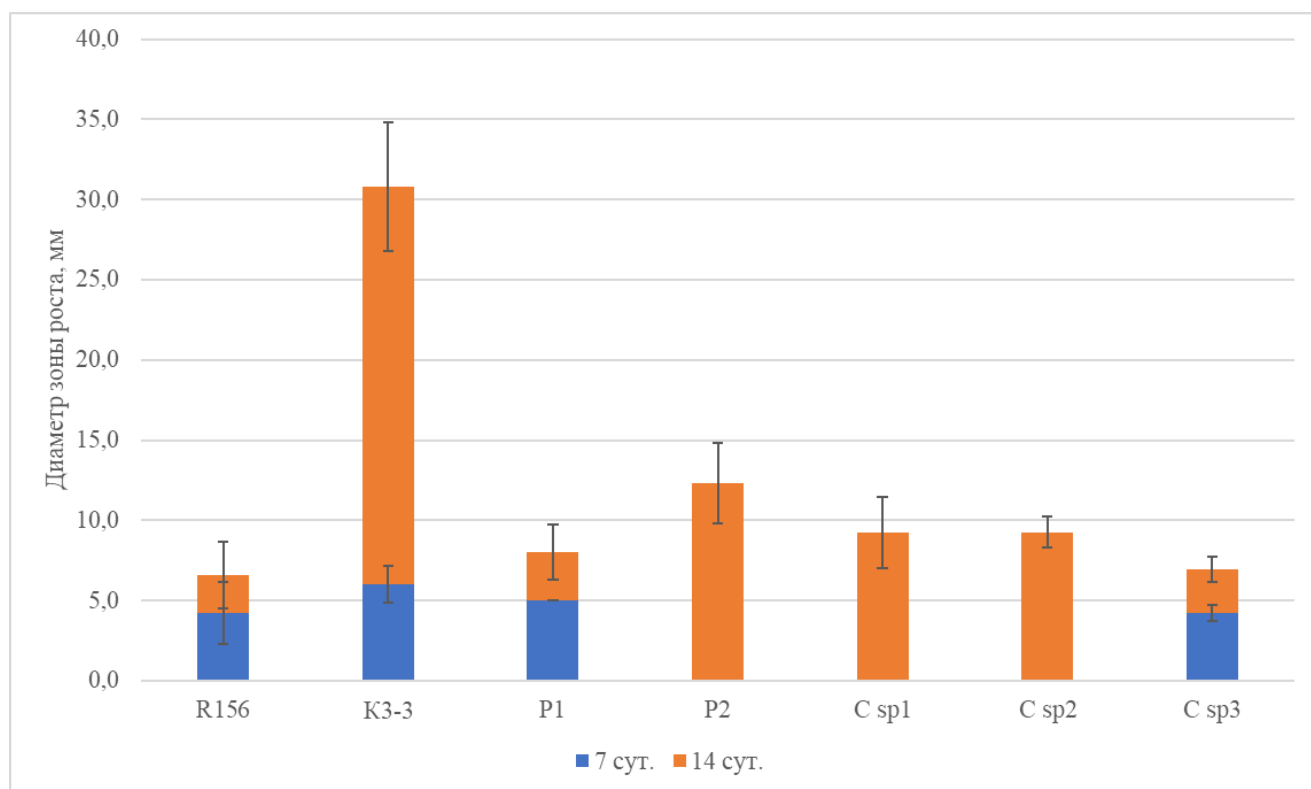


Рисунок 22. Диаметр колоний изолятов на ломтике картофеля на 7-е и 14-е сутки

Три из семи изолятов не показали роста при 12°C: P2, *Ceratobasidium* sp1 и sp2. Отсутствие роста при низкой температуре связано с происхождением этих изолятов из южных регионов: Астраханской области и Шэньчжэня. При 24°C рост показали все культуры, наиболее интенсивно растущим изолятом является патоген *T. cucumeris* K3-3. Остальные изоляты показали меньшую скорость развития, однако существенной разницы между штаммами различного происхождения и таксономического положения не выявлено. Эти результаты свидетельствуют о гембиотрофной природе изолятов Ceratobasidiaceae и их способности перестраивать метаболизм в зависимости от типа взаимоотношений с растением. На данный момент неясны факторы, определяющие патогенность или симбиотрофию этих грибов, а

данные об их способности существовать в различных экологических ролях являются ценным фундаментом для дальнейших исследований.

3.5.4 Ультроструктура мицелия изолятов

Методами электронной микроскопии исследован мицелий симбиотических и патогенных изолятов с целью выявления структур, отражающих экологические особенности изолятов. К признакам, способным указать на трофику изолятов, отнесены толщина клеточной стенки и степень развития полисахаридного чехла. Клеточная стенка и чехол осуществляют механическую защиту мицелия грибов от ферментов растения, а чехол также участвует в механизме биоконтроля двуядерных изолятов *Ceratobasidium* (Maculewicz, 2015). Толщина клеточной стенки измерена в нанометрах на срезах, полученных на ультратоме и исследованных методом ТЭМ, толщина полисахаридного чехла измерялась категориями: слабо выражен, сохраняясь лишь в местах контакта гиф (СЭМ) и имея толщину, не превосходящую толщину клеточной стенки (ТЭМ), или явно выражен, покрывая две или больше гифы и имея толщину более толщины клеточной стенки (см. табл. 17, рис. 23).

Таблица 17. Толщина клеточной стенки и степень развития полисахаридного чехла изолятов.

	R156	K3-3	P1	P2	C sp1	C sp2	C sp3
Клеточная стенка, нм	100±25	78±6	73±18	45±10	97±29	208±44	120±26
Чехол	Слабо выражен		Явно выражен				

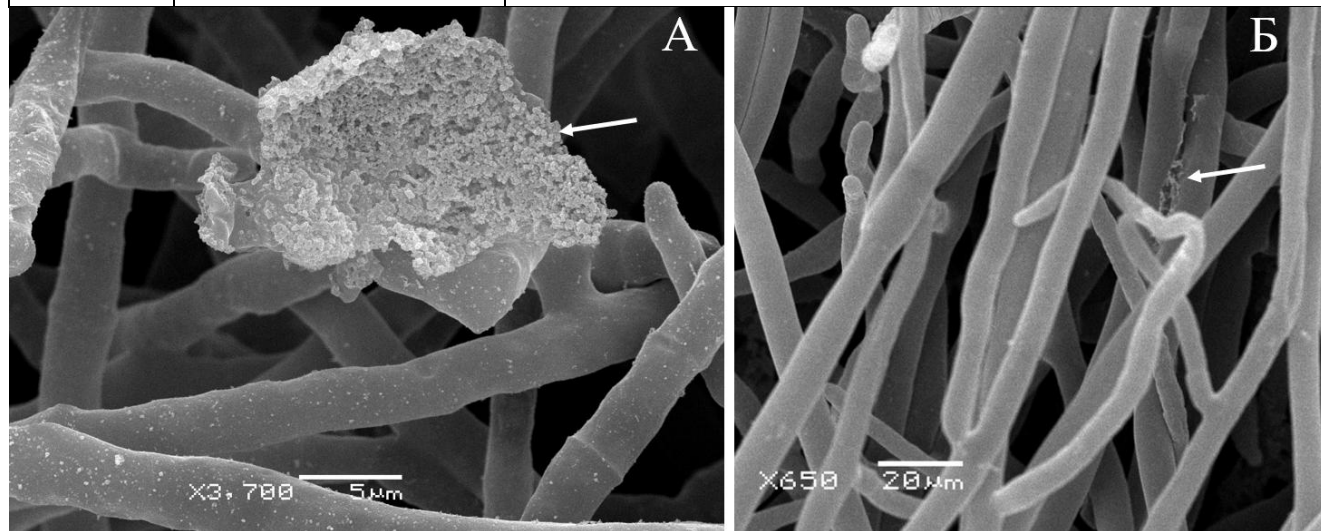


Рисунок 23. Полисахаридный чехол на СЭМ (отмечен стрелками). А – явно выраженный чехол изолята *Ceratobasidium* sp3, Б – слабо выраженный чехол изолята K3-3

Средняя толщина клеточной стенки варьирует в диапазоне от 45 нм (P1) до 208 нм (*Ceratobasidium* sp2). Сильный разброс толщины обусловлен неравномерностью клеточной

стенки, но и с учетом разброса наблюдается существенное различие между изолятами. Большая толщина клеточной стенки свидетельствует о большей устойчивости изолятов к ферментам растения, однако корреляции с экологической ролью, таксономическим положением или патогенностью не наблюдается.

Степень развития полисахаридного чехла коррелирует с таксономическим положением: слабо выраженный чехол характерен для исследованных представителей рода *Thanatephorus*, явно выраженный – для *Ceratobasidium*. Внеклеточные полисахариды грибов участвуют во взаимодействии с растениями. На примере патогена *Rhizoctonia solani* показана активация полисахаридами гриба защитных механизмов риса путем индукции салицилат-опосредованного иммунитета (Lin et al., 2023). Утонышение полисахаридного чехла свидетельствует о приспособлении изолятов к патогенному существованию путем устранения факторов, индуцирующих защиту растения, в то время как сильно развитый чехол характерен для потенциально микоризообразующих изолятов.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии четкого разделения представителей семейства Ceratobasidiaceae на патогенные и микоризообразующие изоляты. Обе экологические группы встречаются среди родов *Ceratobasidium* и *Thanatephorus* и обладают потенциальной способностью вызывать патогенез. Различия между изолятами по числу ядер и степени развития полисахаридного чехла обусловлены больше таксономическим положением, нежели трофическим статусом изолятов. Тем не менее, степень развития полисахаридного чехла объясняется большей приуроченностью изолятов с телеоморфой *Thanatephorus* к фитопатогенному образу жизни. Для более точного определения значимости этого признака в таксономии необходимы дополнительные исследования с более широкой выборкой изолятов.

3.5.5 Биоразнообразие микобионтов подтрибы *Goodyerinae*

В общей сложности из корней представителей подтрибы *Goodyerinae* (*G. repens* и *Z. strateumatica*) выявлено 7 последовательностей представителей Ceratobasidiaceae, относящихся к 6 таксонам: 5 выявлено методом метагеномного анализа и 2 получено с чистых культур. Одна последовательность (*Ceratobasidium* sp3) выявлена обоими подходами (см. табл. 18).

Таблица 18. Выявленные таксоны семейства Ceratobasidiaceae

Таксон	Номер GenBank	Растение-хозяин	Метод выявления
<i>Ceratobasidium</i> sp1	OP782646.1	<i>Z. strateumatica</i>	Культура
<i>Ceratobasidium</i> sp3	OP782630.1	<i>G. repens</i> : Л, М, К	Метагеном, культура

<i>Ceratobasidium</i> sp5	OP800122.1	<i>G. repens</i> : Л, М	Метагеном
<i>Ceratobasidium</i> sp6	OP800123.1	<i>G. repens</i> : Л	
<i>Ceratobasidium</i> sp7	OP782636.1	<i>G. repens</i> : К	
<i>Thanatephorus ochraceus</i>	OP782644.1	<i>G. repens</i> : М	

Из 6 выявленных ОТЕ 5 относятся к роду *Ceratobasidium* и одна – к роду *Thanatephorus* (*T. ochraceus*). *Ceratobasidium* sp1 выделен из корней *Z. strateumatica*. ОТЕ *Ceratobasidium* sp3, 5–7 и *T. ochraceus* выявлены в корнях *G. repens* разных регионов.

3.5.6 Филогения микобионтов подтрибы *Goodyerinae*

Кладограмма построена методом максимального правдоподобия с 1000-кратной проверкой bootstrap-анализом на основе последовательностей микобионтов, выявленных в корнях орхидных родов *Anaectochilus*, *Chamaegastrodia*, *Cheirostylis*, *Erythrodes*, *Goodyera*, *Hataeria* и *Zeuxine*, полученных из базы данных GenBank.

Внешняя группа составлена из последовательностей представителей родственных семейств порядка Cantharellales: Botryobasidiaceae (*Botryobasidium robustius*, MH859491.1), Tulasnellaceae (*Tulasnella cumulopuntioides* NR_160570.1) и Cantharellaceae (*Cantharellus paucifurcatus* NR_137854.1). Также в анализ включены последовательности немикоризных представителей семейства Ceratobasidiaceae: *C. angustisporum* NR_154601.1, *C. pseudocornigerum* MH861653.1, *C. anceps* MH855251.1, *Ceratorhiza oryzae-sativa* MH861282.1, *C. papillatum* NR_154600.1, *C. cereale* AJ302008.1, *C. rhizodes* MH859145.1, *C. chavesanum* NR_164016.1, *C. ramicola* NR_138368.1 и *Thanatephorus cucumeris* MH855798.1.

Идентичные последовательности из растений одного вида с одной территории объединены. Клады с поддержкой >80% предполагались высоко консервативными и рассмотрены как единая эволюционная ветвь для предположения специфичности по отношению к растению-хозяину и региону. Географические регионы выделены следующим образом: тихоокеанский (Япония, запад США), атлантический (Норвегия, запад России, восток США) и тропический (Тайвань, юг Китая, Таиланд, Индия, Гавайи, Пуэрто-Рико) (см. рис. 24).

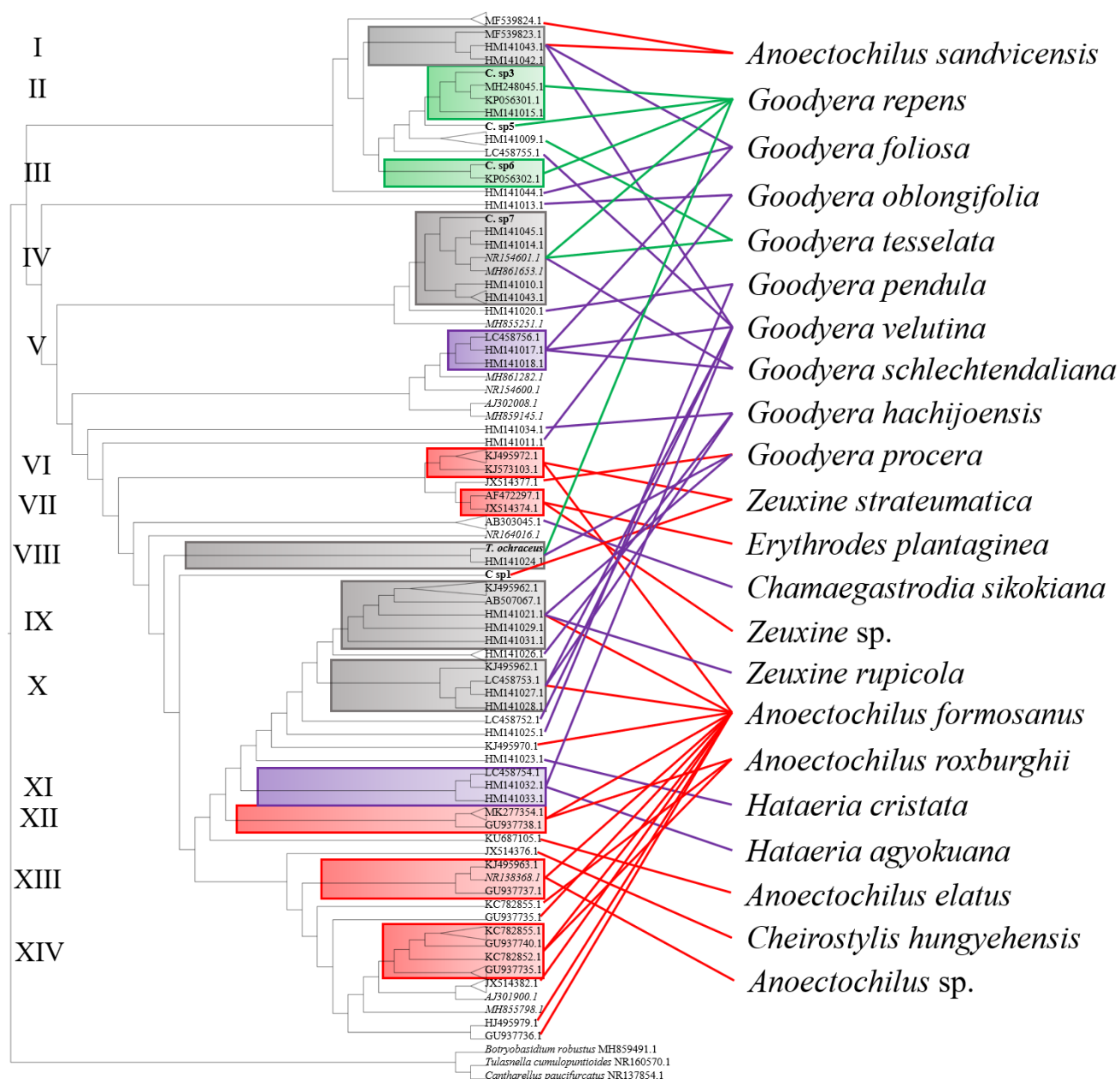


Рисунок 24. Кладограмма микобионтов семейства Ceratobasidiaceae с привязкой к растениям-хозяевам подтрибы *Goodyerinae* и географическим регионам. Фиолетовый – тихоокеанский регион, зеленый – атлантический регион, красный – тропический регион, серый – смешанные группы. Номера последовательностей, выявленных в данном исследовании, выделены полужирным. Немикоризные виды отмечены курсивом

Последовательности, относящиеся к семейству Ceratobasidiaceae, образуют монофилетичную кладу внутри порядка Cantharellales. В силу недостаточной изученности филогении семейства Ceratobasidiaceae и отсутствия системной кластеризации изучаемых последовательностей с известными видами видовая принадлежность последовательностей предположена не была. Вместо этого последовательности объединены в клады, имеющие высокую статистическую поддержку (более 80%), и на основе этих кладов была предположена

экологическая приуроченность таксонов к растению-хозяину и географическому региону. Последовательности, не включенные в клады с сильной поддержкой, рассматривались как отдельные группы.

В общей сложности было выделено 14 клад, имеющих сильную поддержку. Две клады объединяют изоляты из Европы и едины по растению-хозяину (*G. repens*). Две клады включают микобионтов родов *Goodyera* и *Hataeria* тихоокеанского региона. Пять клад специфичны для тропического региона и включают микобионтов *Anoectochilus* spp., *Zeuxine* spp. и *Erythroides plantaginea*. Пять клад являются неспецифичными по региону. По отношению к виду растения-хозяина пять клад объединяют микобионтов *Goodyera* spp., три клады составлены микобионтами *Anoectochilus* spp. и 6 клад смешаны.

ОТЕ *Ceratobasidium* sp3 и sp6 принадлежат к консервативным кладам, включающим микобионтов *G. repens* (клады II и III), *Ceratobasidium* sp5 находится на сестринской ветви клады I с низкой поддержкой (48%). *Ceratobasidium* sp7 кластеризуется на кладе IV с микобионтами *G. repens*, *G. tessellata* и *G. schlechtendaliana* атлантического и тихоокеанского регионов. ОТЕ *T. ochraceus* находится на кладе VIII, кластеризуясь с микобионтом *G. procera* из Японии.

Филогенетический анализ показал наличие клад микобионтов подтрибы Goodyerinae, единообразных по географическому региону и по растению-хозяину. Клады II и III, включающие микобионтов, выявленных в Европе, также едины по растению-хозяину *G. repens* – единственному представителю подтрибы, встречающемуся в бореальных регионах Европы. *Ceratobasidium* sp7, доминирующий в Карачаево-Черкесии – более южном регионе с суббореальным климатом, близок к другим микобионтам, выявленным из местообитаний на схожей широте в США и Японии. На данный момент нет оснований предполагать, что точное таксономическое положение микобионта зависит от таксономического положения орхидеи, за исключением немногих конкретных примеров. Более вероятно, что географическое положение, климат и особенности местообитания формируют уникальное биоразнообразие орхидных и микобионтов, вследствие чего устанавливаются симбиотические взаимоотношения исходя из обоюдной доступности симбионтов. Так, близкие роды *Goodyera* и *Anoectochilus*, произрастающие в регионах, различающихся по климату, формируют микоризу с филогенетически отдаленными кладами микобионтов семейства Ceratobasidiaceae. Таким образом, географическая приуроченность родов и видов орхидных подтрибы Goodyerinae обуславливает обособление отдельных эволюционных клад микобионтов семейства Ceratobasidiaceae.

3.6 Сравнительная анатомия микоризы эпифитных и наземных орхидных

С целью выявления экологических особенностей микоризы эндофитных орхидных в сравнении с наземными видами методами конфокальной и флуоресцентной микроскопии была изучена анатомия колонизированных субстратных корней эпифитов *Dendrobium* sp., *Gastrochilus* sp., *Thrixspermum* sp., пяти неидентифицированных орхидных подсемейства Epidendroideae (*Epidendroideae* gen. sp. 1–5) и корней наземной орхидеи *G. repens*.

3.6.1 Анатомия микоризы эпифитных орхидных

Субстратные корни всех изученных растений имеют явно выраженные абаксиальную и адаксиальную стороны (см. рис. 25, А). Внешний слой корня – веламен, состоит из 2 или более слоев клеток и образуемых ими корневых волосков. Экзодерма состоит из лигнифицированных клеток, удлинённых вдоль оси корня и несущих подковообразные утолщения. Среди этих клеток различаются нелигнифицированные пропускные клетки меньшего размера (см. рис. 25, Б). Кортেকс состоит из двух типов клеток: тонкостенных и лигнифицированных водозапасающих (ВК) (см. рис. 25, А, В). Стела отделена от кортекса слоем эндодермы (см. рис. 25, А).

Грибные гифы, присутствующие в корневых волосках и веламене, показывают беспорядочный рост вдоль оси корня (см. рис. 25, Б, Г). Функционирующие пелотоны с выраженной гифальной структурой или деградировавшие пелотоны без видимых гиф присутствуют в клетках кортекса и водозапасающих клетках (см. рис. 25, А–В). Эндодерма и стела не содержат грибных структур.

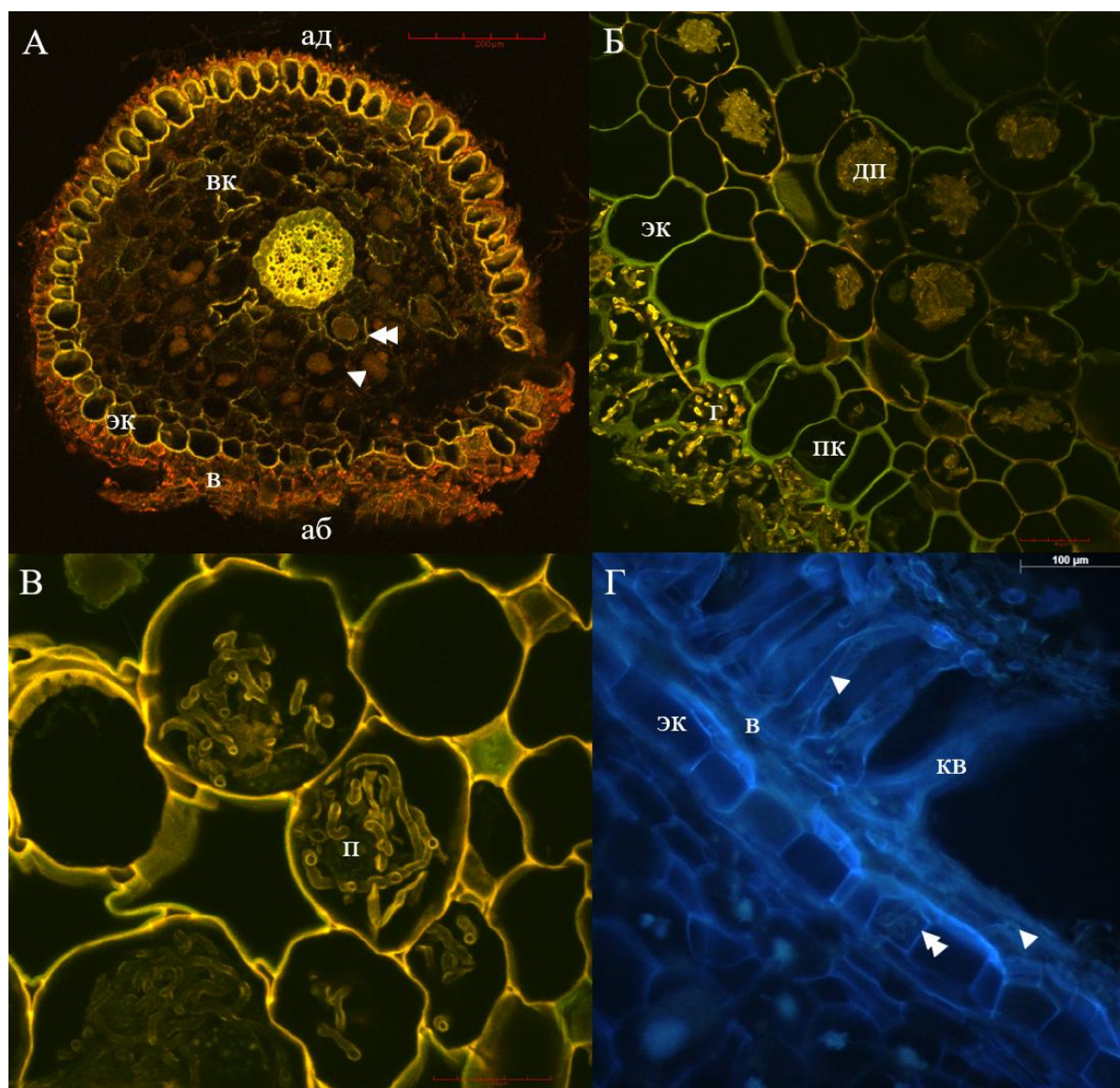


Рисунок 25. Анатомия грибной колонизации субстратных корней эпифитных орхидных. А – конфокальное изображение поперечного среза *Thrixspermum* sp. (аб – абаксиальная сторона, ад – адаксиальная сторона, в – веламен, эк – экзодерма, вк – водозапасающая клетка, стрелки указывают на колонизированные клетки кортекса, двойные стрелки указывают на колонизированные водозапасающие клетки); Б – конфокальное изображение поперечного среза *Epidendroideae* gen sp4 (г – гифы гриба в веламене, эк – экзодерма, пк – пропускная клетка, дп – деградированный пелотон); В – конфокальное изображение поперечного среза *Epidendroideae* gen sp4 (п – функционирующий пелотон); Г – флуоресцентное изображение продольного среза *Epidendroideae* gen sp4 с абаксиальной стороны (кв – корневой волосок, в – веламен, эк – экзодерма, стрелки указывают на грибные гифы в корневом волоске, двойные стрелки указывают на колонизированные пк. Масштабные отрезки: А – 200 μ m, Б – 50 μ m, В – 40 μ m, Г – 100 μ m.

3.6.2 Структура и колонизация водозапасающих клеток корней эпифитных орхидных

С целью выявления закономерностей колонизации грибом гетерогенных по клеточному составу тканей корней эпифитных орхидных особое внимание уделено образованию пелотонов в водозапасающих клетках и прохождению гиф гриба через экзодерму. Был проведен подсчет доли тонкостенных и водозапасающих клеток кортекса, содержащих пелотоны.

ВК присутствуют в корнях всех изучаемых растений и ясно отличаются яркой автофлуоресценцией лигнифицированных клеточных стенок. ВК разных растений различаются по форме на поперечном срезе: эллиптические (см. рис. 26, Е), угловатые (см. рис. 26, А, Б, З) или неправильной формы (см. рис. 26, В–Д, Ж). Форма утолщений на срезах неразличима во всех образцах кроме *Epidendroideae* gen. sp2, где видны отверстия (см. рис. 26, Б).

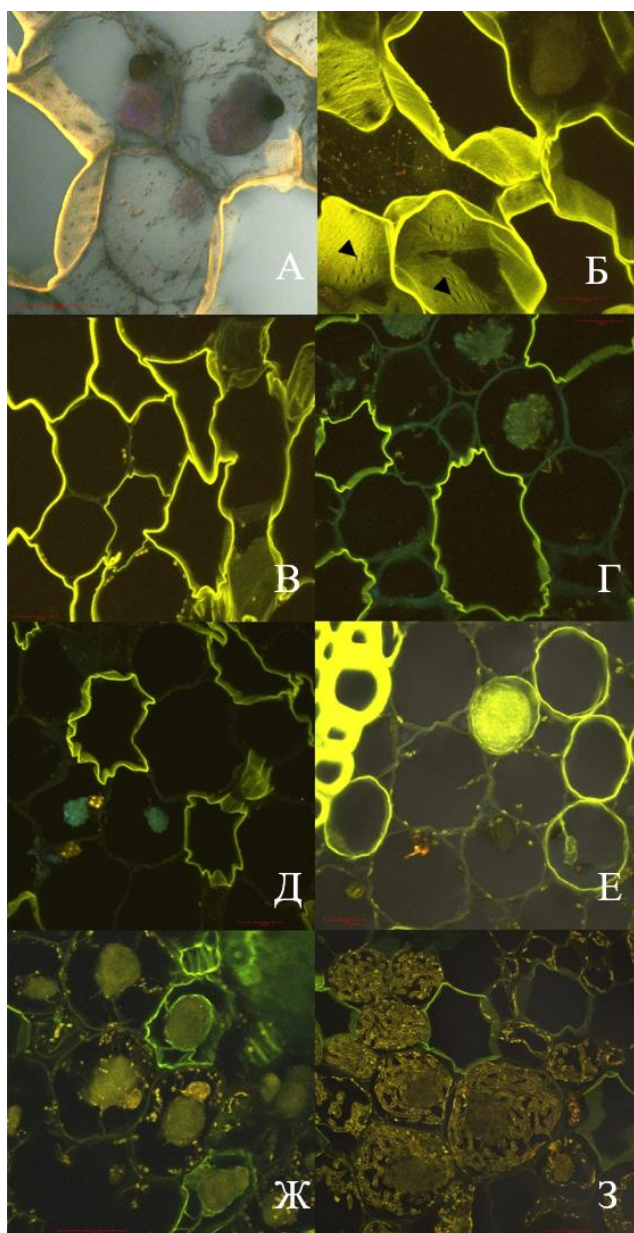


Рисунок 26. Конфокальные изображения водозапасающих клеток на поперечных срезах корней изучаемых растений. А – *Epidendroideae* gen. sp1; Б – *Epidendroideae* gen. sp2, стрелки указывают на отверстия; В – *Epidendroideae* gen. sp3; Г – *Epidendroideae* gen. sp4; Д – *Epidendroideae* gen. sp5; Е – *Dendrobium* sp.; Ж – *Thrixspermum* sp.; З – *Gastrochilus* sp. Масштабные отрезки: А – 40 мкм; Б–Д – 30 мкм, Е – 20 мкм, Ж, З – 50 мкм

Подсчет доли ВК от всех клеток кортекса и доли колонизированных ВК от всех колонизированных клеток кортекса проведен на 6 или более срезах с видимой зоной колонизации. Для каждого образца корней расчет проводился на поперечных или продольных срезах, в силу чего сравнение между образцами не проводилось (см. табл. 19, рис. 27).

Таблица 19. Доли колонизированных клеток в изучаемых растениях. L – продольный срез, Т – поперечный срез

Шифр	Образец	Срез	Доля ВК, %	Доля клеток с пелотоном, %	ВК с пелотоном, %	Тонкостенные с пелотоном, %
Ep1	<i>Epidendroideae</i> 1	L	35,2 ± 0,7	9,8 ± 0,4	7,2 ± 0,75	60,2 ± 0,7
Ep2	<i>Epidendroideae</i> 2	T	41,6 ± 5,9	10,0 ± 1,1	7,8 ± 1,3	53,9 ± 5,9
Ep3	<i>Epidendroideae</i> 3	T	38,5 ± 5,1	9,5 ± 0,7	9,7 ± 1,4	55,5 ± 5,1
Ep4	<i>Epidendroideae</i> 4	L	31,6 ± 6,1	9,9 ± 0,5	10,9 ± 1,6	60,9 ± 6,0
Ep5	<i>Epidendroideae</i> 5	T	34,8 ± 4,3	10,2 ± 0,9	8,9 ± 0,7	59,3 ± 4,4
Dendr	<i>Dendrobium</i> sp.	T	30,9 ± 0,9	17,3 ± 2,5	6,9 ± 0,34	64,3 ± 0,9
Thrix	<i>Thrixspermum</i> sp.	T	35,3 ± 3,8	21,8 ± 3,2	11,9 ± 3,4	57,0 ± 3,8
Gastr	<i>Gastrochilus</i> sp.	T	10,5 ± 2,9	36,6 ± 1,5	1,6 ± 1,3	88,1 ± 2,9
Gr	<i>Goodyera repens</i>	T	НД	99,2 ± 1,1	НД	НД

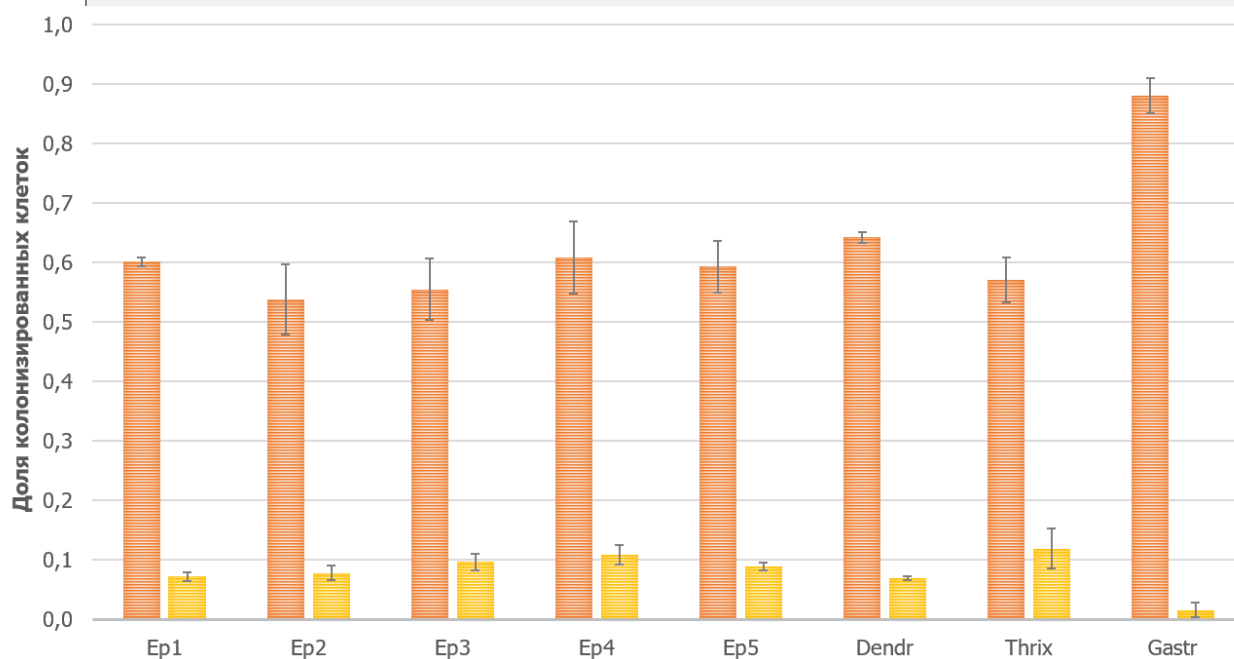


Рисунок 27. Доли колонизированных тонкостенных клеток (оранжевые столбцы) и доли колонизированных водозапасающих клеток (желтые столбцы) в изученных образцах

Доля колонизированных ВК в зоне колонизации разнится от 1,6% (*Gastrochilus* sp.) до 11,9% (*Thrixspermum* sp.), доля колонизированных тонкостенных клеток – от 53,9% (*Epidendroideae* gen sp2) до 88,1% (*Gastrochilus* sp.). Различие между долей колонизированных тонкостенных клеток и ВК значимо для всех образцов (p теста Стьюдента $<0,01$), что свидетельствует о значительно более редкой колонизации ВК по сравнению с тонкостенными клетками кортекса (Bibikov et al., 2025).

3.6.3 Структура и колонизация пропускных клеток корней эпифитных орхидных

Пропускные клетки экзодермы отличаются меньшим размером и отсутствием подковообразного утолщения (рис. 25, Б, Г, рис. 28). Во всех образцах 100% колонизированных клеток экзодермы составляли пропускные клетки, в связи с чем статистические анализы не проведены.

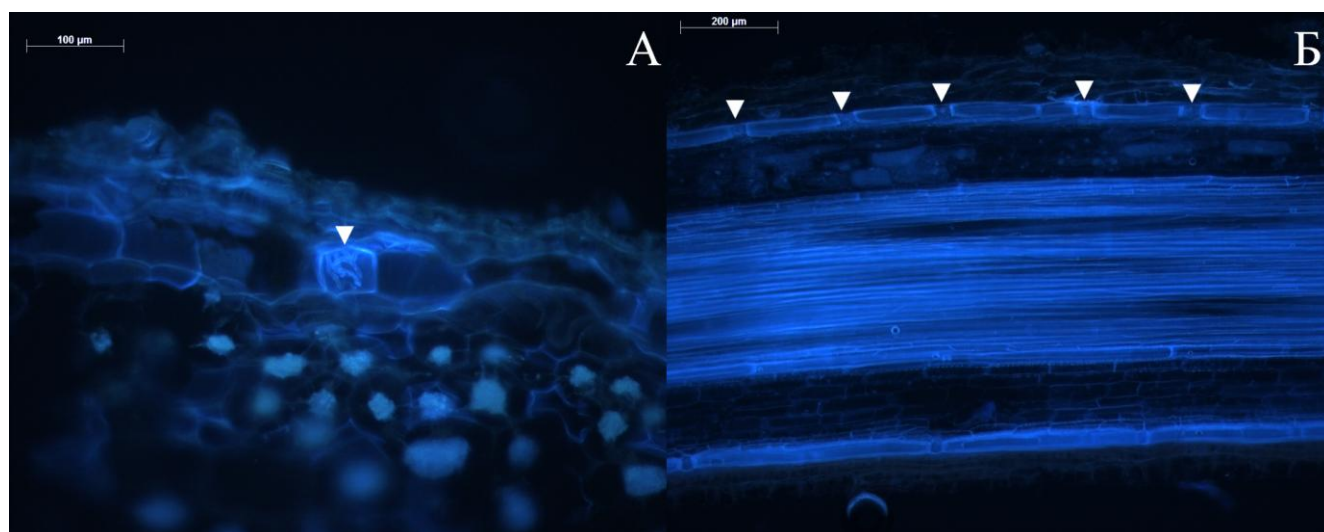


Рисунок 28. Флуоресцентные изображения, показывающие колонизацию пропускных клеток экзодермы. А – *Epidendroideae* gen. sp4; Б – *Dendrobium* sp. Стрелки указывают на пропускные клетки

3.6.4 Анатомия микоризы *Goodyera repens*

Строение корней наземных орхидных отличается от такового у эпифитов меньшей специализацией на запасании воды и регуляции газообмена. В корнях *G. repens* отсутствует веламен, и внешним слоем является экзодерма, состоящий из клеток, несущих подковообразные утолщения (см. рис. 29). Также в кортексе корней *G. repens* отсутствуют водозапасающие клетки.

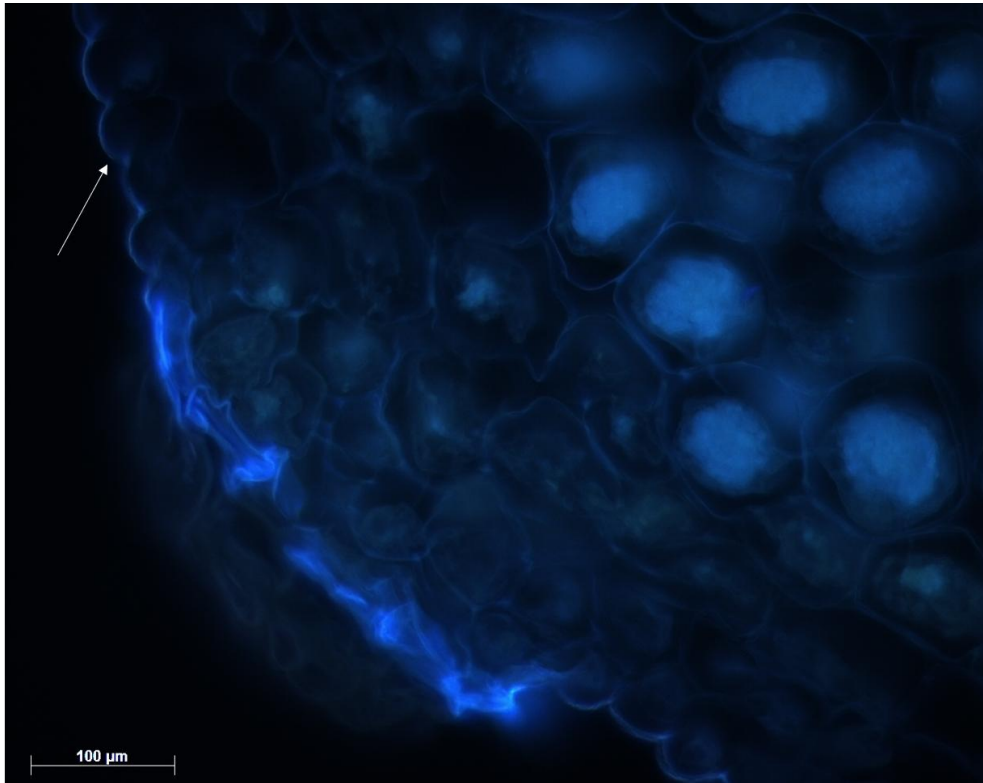


Рисунок 29. Фрагмент поперечного среза корня *G. repens*. Стрелка указывает на экзодерму

Колонизация корня микобионтом происходит через корневые волоски, в местах ответвления которых отсутствуют утолщения стенки клеток экзодермы (см. рис. 30). Вслед за колонизацией корневого волоска гифы прорастают внутрь корня и формируют пелотоны в клетках кортекса.

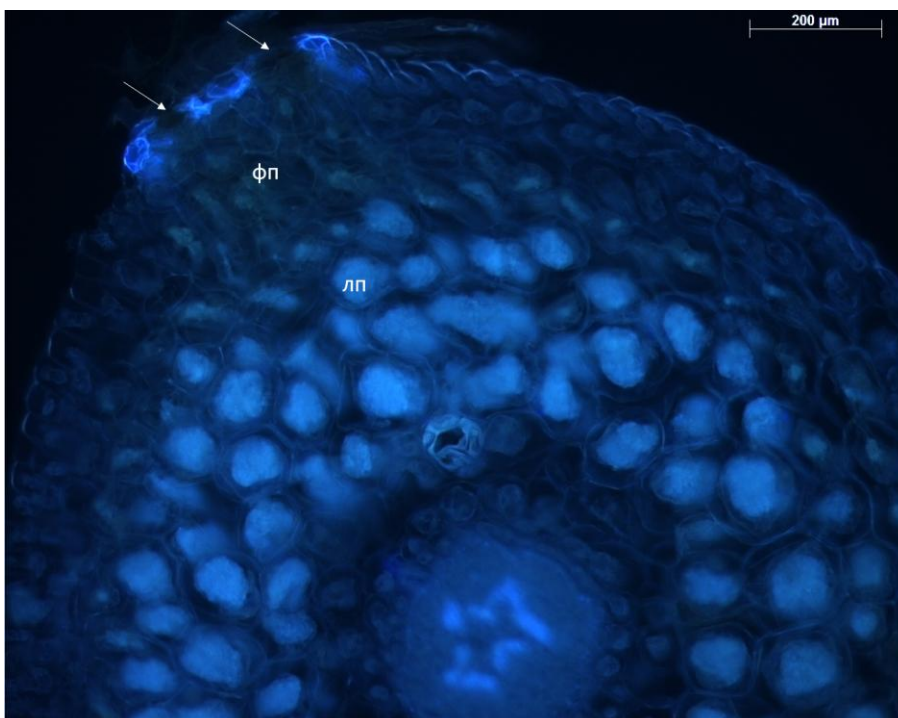


Рисунок 30. Фрагмент поперечного среза колонизированного корня *G. repens*. фп – функционирующий пелотон, лп – лизированный пелотон, стрелки указывают на места проникновения гиф микобионта

Отличие анатомии микоризы *G. repens* по сравнению с эпифитами также заключается в равномерности колонизации кортекса. То же наблюдается и на примере *S. hongkongensis* и *E. graminea* (см. рис. 3, раздел 3.1). Равномерная колонизация обуславливается равномерным расположением корневых волосков, являющихся местами проникновения микобионта в корень.

Таким образом, специализация эпифитных орхидных влияет на колонизацию корней микобионтом. Наличие водозапасающих клеток, веламена и пропускных клеток экзодермы строго контролируют процесс проникновения гиф в кортекс. Колонизация ВК свидетельствует о способности микобионта проникать сквозь лигнифицированные клеточные стенки и предполагает наличие соответствующих специфичных ферментов. Сочетание водозапасающими клетками функций удержания влаги и обмена веществами с микобионтом так же контролируется неизученным физиологическим механизмом.

4. Заключение

Результаты, полученные в ходе данной работы, расширяют современное представление о биоразнообразии микобионтов, специфичности и анатомии орхидной микоризы. Впервые проанализирован таксономический состав грибов, ассоциированных с корнями *Z. strateumatica*, *S. hongkongensis*, *E. graminea* в антропогенном местообитании (кампус МГУ-ППИ в Шэньчжэне). В корнях *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis* выявлены микоризообразователи рода *Ceratobasidium*. Изоляты, схожие с выявленными по последовательности ITS, выявляются как патогены и эндофиты различных растений, что предполагает их гембиотрофность. Способность их формировать ОМ в антропогенных местообитаниях может указывать на генерализм исследуемых видов орхидных и предполагает наличие механизма распространения и инвазии этих видов, способных формировать ОМ с широким кругом микобионтов. В корнях всех трех видов обнаружены эндофиты *Fusarium oxysporum* и *Curvularia lunata*. Их повсеместное распространение объясняется инвазивностью, также подтверждаемой высокой активностью проростков мицелиальных грибов. В корнях этих видов обнаружены два вида, ранее не отмечавшиеся в ассоциации с орхидными: *Scytalidium circinatum* и *Pithomyces cynodontis*.

Для *G. repens* подтверждена предпочтительность ассоциации с представителями семейства Ceratobasidiaceae. В трех регионах России выявлено 5 микоризообразователей, 3 из которых ранее не отмечались для этого вида. Микобионты семейства Ceratobasidiaceae явно тяготеют к корням орхидных, существенно реже встречаясь в свободной почве. *G. repens* является видом-специалистом, формируя ОМ с 1–2 различными микобионтами в пределах одного региона, однако в разных регионах ассоциирована с различными представителями семейства Ceratobasidiaceae. Сравнение изолятов, схожих по последовательности ITS, свидетельствует о наличии генералистов и специалистов среди микобионтов: многие предполагаемые виды явно тяготеют к определенному местообитанию или региону. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что популяции орхидных приурочены к присутствию в почве определенных потенциальных микобионтов, которое в свою очередь обусловлено особенностями местообитания и климатом.

Помимо специфичных для ОМ микобионтов семейства Ceratobasidiaceae в корнях *G. repens* присутствуют микобионты ЭкМ. Сообщество грибов-эктомикоризообразователей характеризуется более высоким биоразнообразием, высокой представленностью в корнях и сравнимой представленностью в корнях и почве, а доля их в корнях обратно пропорциональна доле микобионтов семейства Ceratobasidiaceae. Микобионты ЭкМ отсутствуют в корнях особей *G. repens*, произрастающих не вблизи хвойных деревьев. Эти данные свидетельствуют о возможности ассоциации *G. repens* с микобионтами ЭкМ исключительно при формировании

микоризных сетей. Доступность микобионтов ЭкМ в субстрате может обуславливать предпочтительность ассоциации *G. repens* с ними, а при отсутствии склонять орхидею к ассоциации с гемибiotрофными микобионтами семейства Ceratobasidiaceae. Таким образом, доступность корней деревьев-эктомикоризообразователей является важным фактором, обуславливающим состав сообщества микобионтов в корнях *G. repens*.

Филогения микобионтов семейства Ceratobasidiaceae, ассоциированных с орхидными на примере подтрибы Goodyerinae, указывает на влияние географического региона как на еще один фактор, обуславливающий состав сообщества микобионтов орхидных. Региональное распространение микобионтов обуславливает установление определенных симбиотических связей, различающихся у орхидных тропической и бореальной зоны, и обуславливает обособление отдельных эволюционных клад микобионтов семейства Ceratobasidiaceae. Полученные данные способствуют установлению более точной филогении семейства и описанию новых таксонов, отталкиваясь от географической приуроченности и экологического статуса изолятов.

Неясная филогения и разнообразие экологических стратегий внутри семейства Ceratobasidiaceae стимулирует поиск признаков, позволяющих различить изоляты с разной экологической стратегией. Анализ изолятов, схожими по последовательности ITS с выявленными микобионтами *G. repens*, указывает на принадлежность их к эволюционнымкладам, тяготеющим к формированию ОМ больше, чем к фитопатогенному или сапротрофному образу жизни, в то время как микобионты *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis* являются гемибiotрофами, способными к патогенезу. Несмотря на различие в приуроченности референсных последовательностей, тест на патогенность изолятов выявил различие лишь по региону изоляции штаммов, но не по исходному материалу. Культурально-морфологические особенности также не находят отражение в экологическом статусе изолятов: степень выраженности полисахаридного чехла на поверхности гиф, как и число ядер, отражает таксономический статус, но не экологическую роль. Особенность, различающая гемибiotрофные и микоризообразующие изоляты – способность продуцировать антимикробные веществ, характерная для микобионта *G. repens* в отличие от микобионтов *Z. strateumatica* и *S. hongkongensis*. Отсутствие антибиотической активности можно объяснить отсутствием конкуренции в антропогенных местообитаниях, однако для точного установления значимости этого признака требуются дополнительные исследования с более широкой выборкой. Таким образом, полученные данные подтверждают изначальную гемибiotрофность рода *Ceratobasidium*: сравнительно недолгая коэволюция симбионтов ОМ объясняет разнообразие стратегий и отсутствие признаков, указывающих на определенную

экологическую роль, однако дальнейшие исследования ультраструктур *Ceratobasidium* помогут установить таксономическую значимость выявленных или других признаков.

Исследование анатомии микоризы эпифитных орхидных способствует более глубокому пониманию этого малоизученного симбиоза. Рост гиф и образование пелотонов в гетерогенных клетках экзодермы и кортекса определяет паттерн колонизации корня грибом. Меньшая степень колонизации водозапасающих клеток кортекса свидетельствует о сочетании функций органического и водного питания в корнях орхидных, а также позволяет предположить способность микобионтов экспрессировать лигнолитические ферменты при колонизации корней эпифитных орхидных.

Совместно, полученные данные позволяют сделать следующие выводы:

1. В общей сложности методами метабаркодинга и чистых культур в ассоциации с изучаемыми видами орхидных было выявлено 487 видов грибов, относящихся к 95 порядкам из 27 классов 7 отделов.
2. Орхидные *Zeuxine strateumatica*, *Spiranthes hongkongensis* и *Eulophia graminea* одного местообитания специфичны по составу ассоциативной микобиоты, а их наиболее универсальные эндофиты обладают активностью против мицелиальных грибов, предположительно влияющей на способность грибов колонизировать корни орхидных.
3. Структура грибных сообществ, ассоциированных с *Goodyera repens*, обуславливается типом местообитания.
4. Микобионты эктомикоризы способны частично замещать микобионтов семейства *Ceratobasidiaceae* в корнях *Goodyera repens*, а их наличие обусловлено доступностью корней хвойных деревьев.
5. Представители рода *Ceratobasidium*, формирующие микоризу с *Zeuxine strateumatica*, *Spiranthes hongkongensis* и *Goodyera repens*, обладают географической и таксономической специфичностью и предположительно являются гемибиотрофами.
6. Лигнифицированные клетки кортекса корней эпифитных орхидных могут быть колонизированы микобионтом, в отличие от лигнифицированных клеток экзодермы, а доля колонизированных клеток кортекса корней эпифитов ниже по сравнению с наземными видами.

5. Список сокращений

АГ – анастомозная группа

АМ – арбускулярная микориза

АрМ – арбутоидная микориза

ВК – водозапасающая клетка

КЖ – культуральная жидкость

ОМ – орхидная микориза

ОССП – общий симбиотический сигнальный путь

ОТЕ – оперативная таксономическая единица

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия

ЭкМ – эктомикориза

ЭрМ – эрикоидная микориза

6. Список литературы

1. Бибииков Н. М., Воронина Е. Ю., Кураков А. В. Микобиота корневой системы *Goodyera repens* (Orchidaceae) в популяциях из трех регионов России. Микология и Фитопатология. 2024. – Т. 58 (3). – С. 195–204.
2. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. – Киев: Наук. Думка. 1988. – 204 с.
3. Кузнецова М.А., Ерохова М.Д. Ризоктониоз-опаснейшее заболевание картофеля. Защита и карантин растений. 2021. – Т. 4. – С. 31–34. https://doi.org/10.47528/1026-8634_2021_4_31
4. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: товарищество научных изданий КМК. 2014. – 635 с.
5. Малышева В.Ф., Малышева Е.Ф., Воронина Е.Ю., Федосова А.Г., Бибииков Н.М., Киселева Д.С., Тиунов А.В., Коваленко А.Е. Микориза грушанковых (*Pyrola rotundifolia*, *P. media* и *Orthilia secunda*): состав грибных симбионтов и трофический статус растений. Микология и фитопатология. – 2017. – Т. 51 (6). – С. 350–364.
6. Маракаев О.А., Николаева Т.Н., Алявина А.К., Загоскина Н.В. Содержание фенольных соединений и состояние микосимбионта в вегетативных органах зимующей орхидеи. Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2007. – Т. 4. – С. 20–27.
7. Милько А.А. Определитель мукооральных грибов. – Киев: Наук. Думка. 1974. – 303 с.
8. Пильщикова Н.С., Ганнибал Ф.Б. Современная систематика грибов рода *Rhizoctonia sensu lato*. Микология и фитопатология. 2016. – Т. 50 (2). – С. 75–88.
9. Рожков В.А., Алябина И.О., Колесникова В.М., Молчанов Э.Н., Столбовой В.С., Шоба С.А. Почвенно-географическая база данных России. Почвоведение. 2010. – № 1. – С. 3–6.
10. Сидоров А.В., Зайцева Ю.В., Маракаев О.А. Влияние культуральной жидкости ассоциативных бактерий рода *Pseudomonas* на прорастание, морфогенез и рост *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó (Orchidaceae) в культуре *in vitro*. Вестник Томского государственного университета. Биология. 2020. – Т. 51. – С. 6–24.
11. Смит С., Рид, Д. Микоризный симбиоз. М.: товарищество научных изданий КМК. 2012. – 776 с.
12. Abbas E., Osman A., Sitohy M. Biochemical control of *Alternaria tenuissima* infecting post-harvest fig fruit by chickpea vicilin. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2020. – V. 100 (7). – P. 2889–2897. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10314>

13. Abdel-Fatah H.A., Sallam N.M., Mohamed M.S., Bagy H.M. *Curvularia lunata* as new causal pathogen of tomato early blight disease in Egypt. *Molecular Biology Reports*. 2021. – V. 48. – P. 3001–3006. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06254-8>
14. Abdel-Rahim I.R., Abo-Elyousr K.A. *Talaromyces pinophilus* strain AUN-1 as a novel mycoparasite of *Botrytis cinerea*, the pathogen of onion scape and umbel blights. *Microbiological Research*. 2018. – V. 212. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.004>
15. Abramczyk B, Marzec-Grządziel A., Grządziel J., Król E., Gałązka A., Oleszek W. Biocontrol Potential and Catabolic Profile of Endophytic *Diaporthe eres* Strain 1420S from *Prunus domestica* L. in Poland — A Preliminary Study. *Agronomy*. 2022. – V. 12 (1). – P. 165. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010165>
16. Adil M., Tiwari P., Chen J.T., Khan R.N., Kanwal S. Diversity and Antimicrobial Potential of Orchidaceae-Associated Fungal Endophytes. In: *Advances in Orchid Biology, Biotechnology and Omics*. Singapore: Springer. 2023. – P. 209–220. https://doi.org/10.1007/978-981-99-1079-3_9
17. Adit A., Koul M., Kapoor R., Tandon R. Topological analysis of orchid-fungal endophyte interaction shows lack of phylogenetic preference. *South African Journal of Botany*. 2022. – V. 149. – P. 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.06.025>
18. Aguiar-Pulido V., Huang W., Suarez-Ulloa V., Cickovski T., Mathee K., Narasimhan G. Metagenomics, metatranscriptomics, and metabolomics approaches for microbiome analysis. *Evolutionary Bioinformatics*. 2016. – V. 12. – P. 5–16. <https://doi.org/10.4137/EBO.S36436.TYPE>
19. Aiello D., Vitale A., Hyakumachi M., Polizzi G. Molecular characterization and pathogenicity of binucleate *Rhizoctonia* AG-F associated to the watermelon vine decline in Italy. *European Journal of Plant Pathology*. 2012. – V. 134 (1). – P. 161–165. <https://doi.org/1007/s10658-012-9973-9>
20. Ané, J.M., György B. Kiss B.K. Riely R., Varma P., Giles E.D. Oldroyd, C.A., Julien L. *Medicago truncatula* DMI1 Required for Bacterial and Fungal Symbioses in Legumes. *Science* 2004. – V. 303 (5662). – P. 1364–1367. <https://doi.org/10.1126/science.1092986>.
21. Arditti J., Ghani A.K. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*. 2000. – V. 145. – P. 367–421. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00587.x>
22. Athipunyakom P., Manoch L., Piluek C. Isolation and identification of mycorrhizal fungi from eleven terrestrial orchids. *Agriculture and Natural Resources*. 2004. – V. 38 (2). – P. 216–228.

23. Ávila-Díaz I., Garibay-Orijel R., Magaña-Lemus R.E., Oyama K. Molecular evidence reveals fungi associated within the epiphytic orchid *Laelia speciosa* (HBK) Schltr. Botanical Sciences. 2013. – V. 91 (4). – P. 523–529.
24. Aydın M.H. *Rhizoctonia solani* and its biological control. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi. 2022. – V. 9 (1). – P. 118–135. <https://doi.org/10.19159/tutad.1004550>
25. Bailey B.A., Melnick R.L. The endophytic *Trichoderma*. In: *Trichoderma: biology and applications*. Wallingford UK: CABI. 2013. – P. 152–172. <https://doi.org/10.1079/9781780642475.0152>
26. Barrett C.F., Freudenstein J.V., Lee Taylor D., Kõljalg U. Rangewide analysis of fungal associations in the fully mycoheterotrophic *Corallorhiza striata* complex (Orchidaceae) reveals extreme specificity on ectomycorrhizal *Tomentella* (Thelephoraceae) across North America. American Journal of Botany. 2010. – V. 97 (4). – P. 628–643. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900230>
27. Bayman P., Otero J.T. Microbial endophytes of orchid roots. In: *Microbial root endophytes*. Berlin: Springer. 2006. – P. 153–177. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_9
28. Berg G., Rybakova D., Grube M., Köberl M. The plant microbiome explored: implications for experimental botany. Journal of Experimental Botany. 2016. – V. 67 (4). – P. 995–1002. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv466>
29. Bibikov N.M., Voronina E.Yu., Kurakov A.V. New records of Archaeorhizomycetes from Russia revealed by metagenomic approach. Mikologiya I Fitopatologiya. 2023. – V. 57 (2). – P. 79–85. <https://doi.org/10.31857/S0026364823020058>
30. Bibikov N. M., Voronina E. Yu., Eskov A. K., Ignatov M. S. Mycorrhizal colonization of root cortex water storage cells of epiphytic orchids. Botanicheskii Zhurnal. 2025. – V. 110 (1). – P. 64–70. <https://doi.org/10.31857/S0006813625010037>
31. Blanco A.J., Costa M.O., Silva R.D., Albuquerque F.S., Melo A.T., Lopes F.A., Steindorff A.S., Barbosa E.T., Ulhoa C.J., Lobo Junior M. Diversity and pathogenicity of *Rhizoctonia* species from the Brazilian Cerrado. Plant disease. 2018. – V. 102 (4). – P. 773–781. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-17-0721-RE>
32. Bon T.N., Hung T.T., Trung P.D., Nguyen T.C., Ha D.T., Anh N.T., Son H.T., Long T.H., Tuyen P.Q., Khuong N.V., Quy T.H. Medicinal plant, *Anoectochilus*: Distribution, ecology, commercial value and use in North Vietnam. Journal of Pharmaceutical Research International. 2020. – V. 32 (11). – P. 84–92. <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i1130551>
33. Bougoure J., Ludwig M., Brundrett M., Cliff J., Clode P., Kilburn M., Grierson P. High-resolution secondary ion mass spectrometry analysis of carbon dynamics in mycorrhizas

formed by an obligately myco-heterotrophic orchid. *Plant, cell & environment*. 2014. – V. 37 (5). – P. 1223–1230. <https://doi.org/10.1111/pce.12230>

34. Brunner F., Petrini O. Taxonomy of some *Xylaria* species and xylariaceous endophytes by isozyme electrophoresis. *Mycological Research*. 1992. – V. 96 (9). – P. 723–733. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80440-1](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80440-1)

35. Buatong J. Endophytic fungi producing antimicrobial substance from mangrove plants in the South of Thailand. Ph. D. dissertation. Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand, 2010. – 159 p.

36. Bubnova E.N., Grum-Grzhimaylo O.A., Kozlovsky V.V. Composition and structure of the community of mycelial fungi in the Bottom Sediments of the White Sea. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2020. – V. 75. – P. 153–158. <https://doi.org/10.3103/S0096392520030037>

37. Calevo J., Voyron S., Adamo M., Alibrandi P., Perotto S., Girlanda M. Can orchid mycorrhizal fungi be persistently harbored by the plant host? *Fungal Ecology*. 2021. – V. 53. – P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2021.101071>

38. Cameron D.D., Leake J.R., Read D.J. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist*. 2006. – V. 171 (2). – P. 405–416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01767.x>

39. Cameron D.D., Johnson I., Read D.J., Leake, J.R. Giving and receiving: measuring the carbon cost of mycorrhizas in the green orchid, *Goodyera repens*. *New Phytologist*. 2008. – V. 180 (1). – P. 176–184. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02533.x>

40. Cao P., Fang Y., Zheng Z., Han X., Zou H., Yan X. Occurrence of *Neopestalotiopsis clavispora* causing leaf spot on *Dendrobium officinale* in China. *Plant Disease*. 2022. – V. 106 (6). – P. 1761. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-21-2432-PDN>

41. Cardoso J.C., Zanello C.A., Chen J.T. An overview of orchid protocorm-like bodies: Mass propagation, biotechnology, molecular aspects, and breeding. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. – V. 21 (3). – P. 1–32. <https://doi.org/10.3390/ijms21030985>

42. Carmichael J.W. *Geotrichum candidum*. *Mycologia*. 1957. – V. 49 (6). – P. 820–830. <https://doi.org/10.1080/00275514.1957.12024694>

43. Castellani E. Ricerche morfologico-sistematiche su alcune Rizotomie. *Ann. R. Ist. Sup. Agarico e Forestale*. 1934. – V. 5. – P. 1–16.

44. Cha J.Y., Igarashi T. *Armillaria* species associated with *Gastrodia elata* in Japan. *European Journal of Forest Pathology*. 1995. – V. 25(6-7). – P. 319–326. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1995.tb01347.x>

45. Chamorro M., Aguado A., de los Santos B. First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain. *Plant Dis.* 2016. – V. 100 (7). – P. 1495. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1308-PDN>
46. Chang D.C.N. Research and application of orchid mycorrhiza in Taiwan. In XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Ornamentals, Now! 2006. – V. 766. – P. 299–306. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.766.39>
47. Charpentier M., Sun J., Martins T.V., Radhakrishnan G.V., Findlay K., Soumpourou E., Thouin J., Véry A.A., Sanders D., Morris R.J., Oldroyd G.E. Nuclear-localized cyclic nucleotide-gated channels mediate symbiotic calcium oscillations. *Science.* 2016. – V. 352 (6289). – P. 1102–1105. <https://doi.org/10.1126/science.aae0109>.
48. Chen X., Sui C., Liu Y., Yang Y., Liu P., Zhang Z., Wei J. Agarwood formation induced by fermentation liquid of *Lasiodiplodia theobromae*, the dominating fungus in wounded wood of *Aquilaria sinensis*. *Current microbiology.* 2017. – V. 74. – P. 460-468. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1193-7>
49. Chen S.P., Tian H.Z., Guan Q.X., Zhai J.W., Zhang G.Q., Chen L.J., Liu Z.J., Lan S.R., Li M.H. Molecular systematics of Goodyerinae (Cranichideae, Orchidoideae, Orchidaceae) based on multiple nuclear and plastid regions. *Molecular phylogenetics and evolution.* 2019. – V. 139. – 106542. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106542>
50. Chen Y., Gao Y., Song L., Zhao Z., Guo S., Xing X. Mycorrhizal fungal community composition in seven orchid species inhabiting Song Mountain, Beijing, China. *Science China Life Sciences.* 2019. – V. 62 (6). – P. 838–847. <https://doi.org/10.1007/s11427-018-9471-x>
51. Chen J., Yan B., Tang Y., Xing Y., Li Y., Zhou D., Guo S. Symbiotic and asymbiotic germination of *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) respond differently to exogenous gibberellins. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020. – V. 21 (17). – 6104. <https://doi.org/10.3390/ijms21176104>.
52. Chen C.X., Wu Y.F., Gong H.H., Lin Y.J., Chen C.Y. First Report of Binucleate *Rhizoctonia* AG-L Causing Root and Stem Rot of Wishbone Flower (*Torenia fournieri*) in Taiwan. *Plant Disease.* 2021. – V. 105 (10). – P. 10. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-20-2428-PDN>
53. Chomicki G., Bidel L.P., Jay-Allemand C. Exodermis structure controls fungal invasion in the leafless epiphytic orchid *Dendrophylax lindenii* (Lindl.) Benth. ex Rolfe. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants.* 2014. – V. 209 (2). – P. 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.01.001>

54. Chou, L.C. The mycorrhizal physiology and cultivation of *Anoectochilus formosanus* Hayata, *Haemaria discolor* var. *dawsoniana* and their F1 hybrids. Ph. D. dissertation. Institute of Horticulture, National Taiwan University. 2004. – 169 p.
55. Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W. GenBank. Nucleic Acids Res. 2016. – V. 44 (1). – P. 67–72. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1276>
56. Claro A., Mujica M.I., Cisternas M., Armesto J.J., Pérez F. Low mycorrhizal diversity in the endangered and rare orchids *Bipinnula volckmannii* and *B. apinnula* of Central Chile. Symbiosis. 2020. – V. 80 (2). – P. 145–154. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00648-w>
57. Costantin J, Dufour L Sur la biologie du *Goodyera repens*. Revue generale de Botanique. 1920. – V. 32. – P. 529–533
58. Da Silva J.A., Tsavkelova E.A., Zeng S., Ng T.B., Parthibhan S., Dobránszki J., Cardoso J.C., Rao M.V. Symbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*: fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development. Planta. 2015. – V. 242. – P. 1–22. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2301-9>
59. Dearnaley J.D., Martos F., Selosse M.A. Orchid mycorrhizas: molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. In: Fungal Associations. The Mycota. 2012. – V. 9. – P. 207–230. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0_12
60. Dearnaley J.D., Cameron D.D. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis—further evidence for a mutualistic association. New Phytologist. 2016. – V. 213 (1). – P. 10–12. <https://doi.org/10.1111/nph.14357>
61. Deepthi A.S., Ray J.G. Ecological relevance of the endophytic fungal diversity in velamen roots of tropical epiphytic orchids. Czech Mycology. 2021. – V. 73 (1). – P. 91–108. <https://doi.org/10.33585/cmy.73107>
62. Domsch K. H., Gams W., Anderson T. H. Compendium of soil fungi. Eching: IHW-Verlag. 2007. 672 p.
63. Downie, D.G. Source of the symbiont of *Goodyera repens*. In: Transactions of the Botanical Society of Edinburgh. 1943. – V. 33 (4). – P. 383–390. <https://doi.org/10.1080/13594864309441392>
64. Downing J.L., Liu H., McCormick M.K., Arce J., Alonso D., Lopez-Perez J. Generalized mycorrhizal interactions and fungal enemy release drive range expansion of orchids in southern Florida. Ecosphere. 2020. – V. 11 (8). – P. 1–16. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3228>
65. Duffy K.J., Waud M., Schatz B., Petanidou T., Jacquemyn H. Latitudinal variation in mycorrhizal diversity associated with a European orchid. Journal of Biogeography. 2019. – V. 46 (5). – P. 968–980. <https://doi.org/10.1111/jbi.13548>

66. Eken C., Demirci E.R. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* isolates from bean in Erzurum, Turkey. *Journal of Plant Pathology*. 2004. – V. 86 (1). – P. 49–52.
67. El-Shahir A.A., El-Tayeh N.A., Ali O.M., Abdel Latef A.A., Loutfy N. The Effect of endophytic *Talaromyces pinophilus* on growth, absorption and accumulation of heavy metals of *Triticum aestivum* grown on sandy soil amended by sewage sludge. *Plants*. 2021. – V. 10 (12). – 2659. <https://doi.org/10.3390/plants10122659>
68. Elsharkawy M.M., Hassan N., Villajuan-Abgona R., Hyakumachi M. Mechanism of biological control of *Rhizoctonia* damping-off of cucumber by a non-pathogenic isolate of binucleate *Rhizoctonia*. *African Journal of Biotechnology*. 2014. – V. 13 (5). – P. 640–650. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13584>
69. Eskov A.K., Voronina E.Y., Tedersoo L., Tiunov A.V., Manh V., Prilepsky N.G., Antipina V.A., Elumeeva T.G., Abakumov E.V., Onipchenko V.G. Orchid epiphytes do not receive organic substances from living trees through fungi. *Mycorrhiza*. 2020. – V. 30 (6). – P. 697–704. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00980-w>
70. Esposito F., Jacquemyn H., Waud M., Tyteca D. Mycorrhizal fungal diversity and community composition in two closely related *Platanthera* (Orchidaceae) species. *PLoS One*. 2016. – V. 11 (10). – P. 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164108>
71. Esposito F., Vereecken N.J., Gammella M., Rinaldi R., Laurent P., Tyteca D. Characterization of sympatric *Platanthera bifolia* and *Platanthera chlorantha* (Orchidaceae) populations with intermediate plants. *PeerJ*. 2018. – V. 6 (1). – P. 1–34. <https://doi.org/10.7717/peerj.4256>
72. Fang K., Miao Y.F., Chen L., Zhou J., Yang Z.P., Dong X.F., Zhang H.B. Tissue-specific and geographical variation in endophytic fungi of *Ageratina adenophora* and fungal associations with the environment. *Frontiers in Microbiology*. 2019. – V. 10. – 2919. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02919>
73. Fang Z.F., Yu S.S., Zhou W.Q., Chen X.G., Ma S.G., Li Y., Qu J. A new isocoumarin from metabolites of the endophytic fungus *Alternaria tenuissima* (Nees & T. Nees: Fr.) Wiltshire. *Chinese Chemical Letters*. 2012. – V. 23 (3). – P. 317–320. <https://doi.org/10.31018/jans.v12i3.2345>
74. Fochi V., Chitarra W., Kohler A., Voyron S., Singan V.R., Lindquist E.A., Barry K.W., Girlanda M., Grigoriev I.V., Martin F., Balestrini R. Fungal and plant gene expression in the *Tulasnella calospora*–*Serapias vomeracea* symbiosis provides clues about nitrogen pathways in orchid mycorrhizas. *New Phytologist*. 2017a. – V. 213 (1). – P. 365–379. <https://doi.org/10.1111/nph.14279>

75. Fochi V., Falla N., Girlanda M., Perotto S., Balestrini R. Cell-specific expression of plant nutrient transporter genes in orchid mycorrhizae. *Plant Science*. 2017b. – V. 263. – P. 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.06.015>
76. Freestone M.W., Swarts N.D., Reiter N., Tomlinson S., Sussmilch F.C., Wright M.M., Holmes G.D., Phillips R.D., Linde C.C. Continental-scale distribution and diversity of *Ceratobasidium* orchid mycorrhizal fungi in Australia. *Annals of Botany*. 2021. – V. 128 (3). – P. 329–343. <https://doi.org/10.1093/aob/mcab067>
77. Freestone M., Linde C., Swarts N., Reiter N. *Ceratobasidium* orchid mycorrhizal fungi reveal intraspecific variation and interaction with different nutrient media in symbiotic germination of *Prasophyllum* (Orchidaceae). *Symbiosis*. 2022. – V. 87 (3). – P. 255–268. <https://doi.org/10.1007/s13199-022-00874-9>
78. Fritsche Y., Lopes M.E., Selosse M.A., Stefenon V.M., Guerra M.P. *Serendipita restingae* sp. nov. (Sebacinales): an orchid mycorrhizal agaricomycete with wide host range. *Mycorrhiza*. 2021. – V. 31. – P. 1–5. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-01000-7>
79. Fuller G.D. Symbiosis in Orchids. *Botanical Gazette*. 1909. – V. 48 (6). – P. 474
80. George T.K., Subaida-Beevi S., Asok A.K., Shaikmoideen J.M. Lant growth promoting endophytic yeast *Geotrichum candidum* (jx 477426) from roots of *Bruguiera cylindrica*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2021. – V. 9 (2). – P. 267–272. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.2.267-272>
81. Gielen R., Meister H., Tammaru T., Põldmaa K. Fungi recorded on folivorous Lepidoptera: High diversity despite moderate prevalence. *Journal of Fungi*. 2021. – V. 7 (1). – P. 25. <https://doi.org/10.3390/jof7010025>
82. Girlanda M., Selosse M.A., Cafasso D., Brilli F., Delfine S., Fabbian R., Ghignone S., Pinelli P., Segreto R., Loreto F., Cozzolino S. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae. *Molecular Ecology*. 2006. – V. 15 (2). – P. 491–504. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02770.x>
83. Glynou K., Thines M., Maciá-Vicente J.G. Host species identity in annual Brassicaceae has a limited effect on the assembly of root-endophytic fungal communities. *Plant Ecology & Diversity*. 2018. – V. 11 (5–6). – P. 569–580. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1504332>
84. Gong M., Guan Q., Lin T., Lan J., Liu S. Effects of fungal elicitors on seed germination and tissue culture of *Cymbidium goeringii*. In: *AIP Conference Proceedings*. 2018. – V. 4. – P. 20–45. <https://doi.org/10.1063/1.5034297>
85. Gong A., Zhou T., Xiao C., Jiang W., Zhou Y., Zhang J., Liang Q., Yang C., Zheng W., Zhang C. Association between *Dipsacus* saponin VI level and diversity of endophytic fungi in

roots of *Dipsacus asperoides*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2019. – V. 35. – P. 1–4. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2616-y>

86. Gónzalez D., Rodriguez-Carres M., Boekhout T., Stalpers J., Kuramae E.E., Nakatani A.K., Vilgalys R., Cubeta M.A. Phylogenetic relationships of *Rhizoctonia* fungi within the Cantharellales. Fungal biology. 2016. – V. 120 (4). – P. 603–619. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.012>

87. Gough C., Cullimore J. Lipo-chitooligosaccharide signaling in endosymbiotic plant-microbe interactions. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2011. – V. 24 (8). – P. 867–878. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-11-0019>

88. Govaerts R., Bernet P., Kratochvil K., Gerlach G., Carr G., Alrich P., Pridgeon A.M., Pfahl J., Campacci M.A., Baptista D.H., Tigges H. World Checklist of Orchidaceae Family. <http://apps.kew.org/wcsp/> (accessed IX-2019)

89. Haryuni. Identification of Mycorrhiza Rhizoctonia on The Groups of Orchids and Groups of Their Anastomosis. Biosantifica. 2013. – V. 5 (1). – P. 1–7. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v5i1.2573>

90. Hashimoto Y., Fukukawa S., Kunishi A., Suga H., Richard F., Sauve M., Selosse M.A. Mycoheterotrophic germination of *Pyrola asarifolia* dust seeds reveals convergences with germination in orchids. New Phytologist. 2012. – V. 195 (3). – P. 620–630. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04174.x>

91. Heinonsalo J., Buee M., Vaario L.M. Root-endophytic fungi cause morphological and functional differences in Scots pine roots in contrast to ectomycorrhizal fungi. Botany. 2017. – V. 95 (2). – P. 203–210. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0161>

92. Herrera P., Kottke I., Molina M.C., Mendez M. and Suárez J.P. Generalism in the interaction of Tulasnellaceae mycobionts with orchids characterizes a biodiversity hotspot in the tropical Andes of Southern Ecuador. Mycoscience. 2017. – V. 59 (1). – P. 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2017.08.003>

93. Herrera P., Suárez J.P., Sánchez-Rodríguez A., Molina M.C., Prieto M., Méndez M. Many broadly-shared mycobionts characterize mycorrhizal interactions of two coexisting epiphytic orchids in a high elevation tropical forest. Fungal Ecology. 2019. – V. 39. – P. 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.11.003>

94. Herrera-Rus I., Pastor J.E., Juan R. Fungal colonization associated with phenological stages of a photosynthetic terrestrial temperate orchid from the Southern Iberian Peninsula. Journal of plant research. 2020. – V. 133 (6). – P. 807–825. <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01225-9>

95. Hietala A.M., Vahala J., Hantula J. Molecular evidence suggests that *Ceratobasidium bicorne* has an anamorph known as a conifer pathogen. *Mycological Research*. 2001. – V. 105 (5). – P. 555–562. <https://doi.org/10.1017/S0953756201003951>
96. Higaki K., Rammitsu K., Yamashita Y., Yukawa T., Ogura-Tsujita Y. A method for facilitating the seed germination of a mycoheterotrophic orchid, *Gastrodia pubilabiata*, using decomposed leaf litter harboring a basidiomycete fungus, *Mycena* sp. *Botanical studies*. 2017. – V. 58 (1). – P. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0214-6>
97. Hossain M.M. Morpho-molecular characterization of *Ceratobasidium* sp.: A mycorrhizal fungi isolated from a rare epiphytic orchid *Gastrochilus calceolaris* (JE Sm.) D. Don. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*. 2019. – V. 26 (2). – P. 249–257. <https://doi.org/10.3329/bjpt.v26i2.44584>
98. Hou X.Q., Guo S.X. Interaction between a dark septate endophytic isolate from *Dendrobium* sp. and roots of *D. nobile* seedlings. *Journal of integrative plant biology*. 2009. – V. 51 (4). – P. 374–381. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00777.x>
99. Hou X., Zheng M., Ao J., Wang H., Peng L., Zhou H. Occurrence of Leaf Spot Caused by *Diaporthe phaseolorum* on *Bletilla striata* in China. *Plant Disease*. 2022. – V. 106 (12). – P. 3200. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-22-0138-PDN>
100. Huang G.Q., Gong S.Y., Xu W.L., Li W., Li P., Zhang C.J., Li D.D., Zheng Y., Li F.G., Li X.B. A fasciclin-like arabinogalactan protein, GhFLA1, is involved in fiber initiation and elongation of cotton. *Plant Physiology*. 2013. – V. 161 (3). – P. 1278–1290. <https://doi.org/10.1104/pp.112.203760>.
101. Huang C.L., Jian F.Y., Huang H.J., Chang W.C., Wu W.L., Hwang C.C., Lee R.H., Chiang T.Y. Deciphering mycorrhizal fungi in cultivated *Phalaenopsis* microbiome with next-generation sequencing of multiple barcodes. *Fungal Diversity*. 2014. – V. 66. – P. 77–88. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0281-x>
102. Huang M., Gao D., Lin L., Wang S., Xing S. Spatiotemporal dynamics and functional characteristics of the composition of the main fungal taxa in the root microhabitat of *Calanthe sieboldii* (Orchidaceae). *BMC Plant Biology*. 2022. – V. 22 (1). – P. 556–572. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03940-y>
103. Husaini A.M., Sakina A., Cambay S.R. Host–pathogen interaction in *Fusarium oxysporum* infections: where do we stand? *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2018. – V. 31 (9). – P. 889–898. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-17-0302-CR>
104. Hynson N.A., Bruns T.D. Evidence of a myco-heterotroph in the plant family Ericaceae that lacks mycorrhizal specificity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009. – V. 276 (1675). – P. 4053–4059. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1190>

105. Hynson N.A., Preiss K., Gebauer G. Is it better to give than to receive? A stable isotope perspective on orchid-fungal carbon transport in the green orchid species *Goodyera repens* and *Goodyera oblongifolia*. *New Phytologist*. 2009. – V. 182 (1). – P. 8–11. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02778.x>
106. Hynson N.A., Madsen T.P., Selosse M.A., Adam I.K., Ogura-Tsujita Y., Roy M., Gebauer G. The physiological ecology of mycoheterotrophy. In: *Mycoheterotrophy: the biology of plants living on fungi*. Berlin: Springer. 2013. – P. 297–342.
107. Hynson N.A., Bidartondo M.I., Read D.J. Are there geographic mosaics of mycorrhizal specificity and partial mycoheterotrophy? A case study in *Moneses uniflora* (Ericaceae). *New Phytologist*. 2015. – V. 208 (4). – P. 1003–1007. <https://doi.org/10.1111/nph.13587>
108. Idris N.A., Collings D.A. Cell wall development in the velamen of the orchid *Miltaniopsis* investigated by confocal microscopy. *Malaysian Journal of Microscopy*. 2014. – V. 10 (1). – P. 20–26.
109. Ignatov M. S., Spirina U. N., Kolesnikova M. A. How opposite may differ from opposite: a lesson from the peristome development in the moss *Diselium*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2021. – V. 195 (3). – P. 420–436. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boaa085>
110. Izuddin M., Srivathsan A., Lee A.L., Yam T.W., Webb E.L. Availability of orchid mycorrhizal fungi on roadside trees in a tropical urban landscape. *Scientific reports*. 2019. – V. 9 (1). – P. 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56049-y>
111. Jacquemyn H., Waud M., Merckx V.S., Brys R., Tyteca D., Hedrén M., Lievens B. Habitat-driven variation in mycorrhizal communities in the terrestrial orchid genus *Dactylorhiza*. *Scientific Reports*. 2016. – V. 6 (1). – P. 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep37182>
112. Jacquemyn H., Waud M., Brys R., Lallemand F., Courty P.E., Robionek A., Selosse M.A. Mycorrhizal associations and trophic modes in coexisting orchids: an ecological continuum between auto- and mixotrophy. *Frontiers in Plant Science*. 2017. – V. 8. – 1497. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01497>
113. Jacquemyn H., Merckx V.S. Mycorrhizal symbioses and the evolution of trophic modes in plants. *Journal of Ecology*. 2019. – V. 107 (4). – P. 1567–1581. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13165>
114. Jacquemyn H., Brys R., Waud M., Evans A., Figura T., Selosse M.A. Mycorrhizal communities and isotope signatures in two partially mycoheterotrophic orchids. *Frontiers in Plant Science*. 2021. – V. 12. – P. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.618140>

115. Jiang J., Zhang K., Cheng S., Nie Q., Zhou S.X., Chen Q., Zhou J., Zhen X., Li X.T., Zhen T.W., Xu M. *Fusarium oxysporum* KB-3 from *Bletilla striata*: an orchid mycorrhizal fungus. *Mycorrhiza*. 2019. – V. 29. – P. 531–540. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00904-3>
116. Jonsson L., Nylund J.E. *Favolaschia dybowskyana* (Singer) Singer (Aphyllophorales), a new orchid mycorrhizal fungus from tropical Africa. *New Phytologist*. 1979. – V. 83 (1). – P. 121–128. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1979.tb00733.x>
117. Júnior R.F., Pedrinho E.A., Castellane T.C., de Macedo Lemos E.G. Auxin-producing bacteria isolated from the roots of *Cattleya walkeriana*, an endangered Brazilian orchid, and their role in acclimatization. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2011. – V. 35 (3). – P. 729–737. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832011000300008>
118. Jumpponen A. Dark septate endophytes – are they mycorrhizal? *Mycorrhiza*. 2001. – V. 11. – P. 207–211. <https://doi.org/10.1007/s005720100112>
119. Kallunki J.A. Population studies in *Goodyera* (Orchidaceae) with emphasis on the hybrid origin of *G. tessellata*. *Brittonia*. 1976. – V. 28. – P. 53–75. <https://doi.org/10.2307/2805559>
120. Kant R., Verma J. Obligate apomixis in *Zeuxine strateumatica* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae). *Vegetos*. 2012. – V. 25 (1). – P. 274–277.
121. Kataria H.R., Hoffmann G.M. A critical review of plant pathogenic species of *Ceratobasidium* Rogers. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 1988. – V. 95 (1). – P. 81–107.
122. Katoh K., Rozewicki J., Yamada, K.D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*. 2019. – V. 20 (4). – P. 1160–1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
123. Kepler R.M., Sung G.H., Ban S., Nakagiri A., Chen M.J., Huang B., Li Z.Z., Spatafora J.W. New teleomorph combinations in the entomopathogenic genus *Metacordyceps*. *Mycologia*. 2012. – V. 104 (1). – P. 182–197. <https://doi.org/10.3852/11-070>
124. Khan A.L., Shinwari Z.K., Kim Y.H., Waqas M., Hamayun M., Kamran M., Lee I.J. Role of endophyte *Chaetomium globosum* LK4 in growth of *Capsicum annuum* by production of gibberellins and indole acetic acid. *Pak. J. Bot.* 2012. – V. 44 (5). – P. 1601–1607.
125. Kim W.G., Lee B.D., Kim W.S., Cho W.D. Root Rot of Moth Orchid Caused by *Fusarium* spp. *The Plant Pathology Journal*. 2002. – V. 18 (4). – P. 225–227. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2002.18.4.225>
126. Kodati S., Adesemoye A.O., Yuen G.Y., Volesky J.D., Everhart S.E. Origin of agricultural plant pathogens: Diversity and pathogenicity of *Rhizoctonia* fungi associated with

native prairie grasses in the Sandhills of Nebraska. PloS one. 2021. – V. 16 (4). – P. 117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249335>

127. Kohout P, Těšitelová T, Roy M, Vohník M, Jersáková J. A diverse fungal community associated with *Pseudorchis albida* (Orchidaceae) roots. Fungal Ecology. 2013. – V. 6 (1). – P. 50–64. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.08.005>

128. Kopilov E., Kyslynska A., Nadkernychna O., Tsekhmister H. Formation and functioning of *Chaetomium cochliodes*/*Fagopyrum esculentum* endophytic association. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. 2021. – V. 10 (1). – P. 190–196. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.2.190-196>

129. Kottke I., Suárez J.P., Herrera P., Cruz D., Bauer R., Haug I., Garnica S. Atractiellomycetes belonging to the ‘rust’ lineage (Pucciniomycotina) form mycorrhizae with terrestrial and epiphytic neotropical orchids. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2010. – V. 277. – P. 1289–1298. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1884>

130. Krings M., Taylor T.N., Taylor E.L., Dotzler N., Walker, C. Arbuscular mycorrhizal-like fungi in Carboniferous arborescent lycopsids. New Phytologist. 2011. – V. 191 (2). – P. 311–314. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03752.x>

131. Küçük Ç., Kivanç M. In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turkish Journal of Biology. 2004. – V. 28 (2). – P. 111–115.

132. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular biology and evolution. 2018. – V. 35(6). – 1547. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

133. Lallemand F., Figura T., Damesin C., Fresneau C., Griveau C., Fontaine N., Zeller B., Selosse M. A. Mixotrophic orchids do not use photosynthates for perennial underground organs. New Phytologist. 2019. – V. 221 (1). – P. 12–17. <https://doi.org/10.1111/nph.15443>

134. Lan I.C. Effects of orchid mycorrhizal fungi on the growth and development of *Phalaenopsis* and *Paphiopedium* spp., Master’s thesis. Department of Horticulture, National Taiwan University. 2001. – 93 p.

135. Larriba E., Jaime M.D., Nislow C., Martín-Nieto J., Lopez-Llorca L.V. Endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* reveals plant growth promotion and a general defense and stress transcriptomic response. Journal of Plant Research. 2015. – V. 128. – P. 665–678. <https://doi.org/10.1007/s10265-015-0731-x>

136. Łazarski G. Expansion of cold-adapted orchid *Goodyera repens* (Orchidaceae) in times of global warming—report from southern Poland. Polish Journal of Ecology. 2021. – V. 68 (4). – P. 313–322. <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2020.68.4.004>

137. Li Y., Li Y., Chang S.X., Liang X., Qin H., Chen J., Xu Q. Linking soil fungal community structure and function to soil organic carbon chemical composition in intensively managed subtropical bamboo forests. *Soil Biology and Biochemistry*. 2017. – V. 107. – P. 19–31. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.12.024>
138. Li C., Guo Z., Zhou S., Han Q., Zhang M., Peng Y., Hsiang T., Chen X. Evolutionary and genomic comparisons of hybrid uninucleate and nonhybrid *Rhizoctonia* fungi. *Communications Biology*. 2021. – V. 4 (1). – 201. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01724-y> |
139. Li M.H., Liu K.W., Li Z., Lu H.C., Ye Q.L., Zhang D., Wang J.Y., Li Y.F., Zhong Z.M., Liu X., Yu X. Genomes of leafy and leafless *Platanthera* orchids illuminate the evolution of mycoheterotrophy. *Nature Plants*. 2022. – V. 8 (4). – P. 373–388. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01127-9>
140. Li Y.Y., Boeraeve M., Cho Y.H., Jacquemyn H., Lee Y.I. Mycorrhizal switching and the role of fungal abundance in seed germination in a fully mycoheterotrophic orchid, *Gastrodia confusoides*. *Frontiers in Plant Science*. 2022. – V. 12. – P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.775290>
141. Lin Y., Gu H., Jia X., Wang W., Hong B., Zhang F., Yin H. *Rhizoctonia solani* AG1 IA extracellular polysaccharides: Structural characterization and induced resistance to rice sheath blight. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. – V. 16. – 125281. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125281>
142. Liu H., Luo Y., Liu H. Studies of mycorrhizal fungi of Chinese orchids and their role in orchid conservation in China — a review. *The Botanical Review*. 2010. – V. 76 (2). – P. 241–262. <https://doi.org/10.1007/s12229-010-9045-9>
143. Lopes U.P., Zambolim L., Pereira O.L. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing leaf blight on the orchid *Catasetum fimbriatum* in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes*. 2009. – V. 4 (1). – P. 64–65
144. Ma L., Cao Y.H., Cheng M.H., Huang Y., Mo M.H., Wang Y., Yang J.Z., Yang F.X. Phylogenetic diversity of bacterial endophytes of *Panax notoginseng* with antagonistic characteristics towards pathogens of root-rot disease complex. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013. – V. 103. – P. 299–312. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9810-3>
145. Maclean A.M., Bravo A., Harrison A.J. Plant signaling and metabolic pathways enabling arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Cell*. 2017. – V. 29 (10). – P. 2319–2335. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00555>.
146. Maculewicz D. Binucleate *Rhizoctonia* spp. as a biocontrol agents against plant pathogens. *Ecological Chemistry and Engineering. A*. 2015. – V. 22 (2). – P. 195–203. [https://doi.org/10.2428/ecea.2015.22\(2\)16](https://doi.org/10.2428/ecea.2015.22(2)16)

147. Maketon C., Tongjib Y., Patipong T., Meechareon N., Rungratanaubon T., Maketon M. Greenhouse evaluations of harpin protein and microbial fungicides in controlling *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme*, and *Phytophthora palmivora*, major causes of orchid diseases in Thailand. *Life Sci J.* 2015. – V. 12. – P. 125–132.
148. Mari M., Torres R., Casalini L., Lamarca N., Mandrin J.F., Lichou J., Larena I., De Cal M.A., Melgarejo P., Usall J. Control of post-harvest brown rot on nectarine by *Epicoccum nigrum* and physico-chemical treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2007. – V. 87 (7). – P. 1271-1277. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2839>
149. Martin F., Kohler A., Murat C., Veneault-Fourrey C., Hibbett D.S. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses. *Nature Reviews Microbiology.* 2016. – V. 14 (12). – P. 760–773. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.149>
150. Martino E., Morin E., Grelet G.A., Kuo A., Kohler A., Daghino S., Barry K.W., Cichocki N., Clum A., Dockter R.B., Hainaut M. Comparative genomics and transcriptomics depict ericoid mycorrhizal fungi as versatile saprotrophs and plant mutualists. *New Phytologist.* 2018. – V. 217 (3). – P. 1213–1229. <https://doi.org/10.1111/nph.14974>
151. Martos F., Dulormne M., Paillet T., Bonfante P., Faccio A., Fournel J., Dubois M.P., Selosse M.A. Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytologist.* 2009. – V. 184 (3). – P. 668–681. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02987.x>
152. Mashiane R.A., Ezeokoli O.T., Adeleke R.A., Bezuidenhout C.C. Metagenomic analyses of bacterial endophytes associated with the phyllosphere of a Bt maize cultivar and its isogenic parental line from South Africa. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2017. – V. 33. – P. 1–2. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2249-y>
153. Masuhara G., Katsuya K., Yamaguchi K. Potential for symbiosis of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* with seeds of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* in vitro. *Mycological Research.* 1993. – V. 97 (6). – P. 746–752. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80156-1](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80156-1)
154. Matsuda Y., Yamaguchi Y., Matsuo N., Uesugi T., Ito J., Yagame T., Figura T., Selosse M.A., Hashimoto Y. Communities of mycorrhizal fungi in different trophic types of Asiatic *Pyrola japonica sensu lato* (Ericaceae). *Journal of plant research.* 2020. – V. 133. – P. 841–853. <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01233-9>
155. Meng Y.Y., Zhang W.L., Selosse M.A., Gao J.Y. Are fungi from adult orchid roots the best symbionts at germination? A case study. *Mycorrhiza.* 2019. – V. 29. P. 541–547. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00907-0>

156. Meneses Z.D., Cootes J.E. *Pseuderia samarana* (Orchidaceae), a new species and genus record from the Philippines. Taiwan. 2019. – V. 64 (4). – P. 353–356. <https://doi.org/10.6165/tai.2019.64.353>
157. Menkis, A., Urbina, H., James, T.Y., Rosling, A. *Archaeorhizomyces borealis* sp. nov. and a sequence-based classification of related soil fungal species. Fungal biology. 2014. – V. 118 (12). – P. 943–955. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.08.005>
158. Mertely, J. C., D. E. Legard. Detection, isolation, and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. from strawberry petioles. Plant Disease. 2004. – V. 88 (4). – P. 407–412. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.4.407>
159. Miller J.B., Pratap A., Miyahara A., Zhou L., Bornemann S., Morris R.J., Oldroyd G.E. Calcium/Calmodulin-dependent protein kinase is negatively and positively regulated by calcium, providing a mechanism for decoding calcium responses during symbiosis signaling. The Plant Cell. 2013. – V. 25 (12). – 5053. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116921>.
160. Miura C., Yamaguchi K., Miyahara R., Yamamoto T., Fuji M., Yagame T., Imaizumi-Anraku H., Yamato M., Shigenobu S., Kaminaka H. The mycoheterotrophic symbiosis between orchids and mycorrhizal fungi possesses major components shared with mutualistic plant-mycorrhizal symbioses. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2018. – V. 31 (10). – P. 1032–1047. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-18-0029-R>
161. Miyauchi S., Kiss E., Kuo A., Drula E., Kohler A., Sánchez-García M., Morin E., Andreopoulos B., Barry K.W., Bonito G., Buée M. Large-scale genome sequencing of mycorrhizal fungi provides insights into the early evolution of symbiotic traits. Nature communications. 2020. – V. 11 (1) – P. 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18795-w>
162. Morgan T., Custódio F.A., Tavares M.P., Pereira O.L., Guimarães V.M., de Oliveira Mendes T.A. Genome sequencing and evolutionary analysis of a new endophytic *Trichoderma* species isolated from orchid roots with reduced repertoire of protein-coding genes. Mycological Progress. 2022. – V. 21 (7). – P. 60. <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01811-2>
163. Mutiga S.K., Orwa P., Nganga E.M., Kyallo M.M., Rotich F., Gichuhi E., Kimani J.M., Mwongera D.T., Were V.M., Yanoria M.J., Murori R. Characterization of blast resistance in a diverse rice panel from sub-Saharan Africa. Phytopathology. 2023. – V. 20 (2). – P. 11–20. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0379-R>
164. Muzhinji N., Truter M., Woodhall J.W., Van der Waals J.E. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* from potato in South Africa. Plant Disease. 2015. – 99 (12). – P. 1790–1802. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0236-RE>

165. Neto L.M., Miranda M.R., Cruz D. *Zeuxine strateumatica* (Orchidaceae) goes south: a first record for Brazil. *Kew Bulletin*. 2011. – V. 66. – P. 155–158. <https://doi.org/10.1007/s12225-011-9271-2>
166. Newton A.C., Fitt B.D., Atkins S.D., Walters D.R., Daniell T.J. Pathogenesis, parasitism and mutualism in the trophic space of microbe–plant interactions. *Trends in microbiology*. 2010. – V. 18 (8). – P. 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.06.002>
167. Nguyen N.H., Song Z., Bates S.T., Branco S., Tedersoo L., Menke J., Schilling J.S., Kennedy P.G FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 2016. – V. 20. – P. 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006>
168. Ni Y., Yang T., Zhang K., Shen C., Chu H. Fungal communities along a small-scale elevational gradient in an alpine tundra are determined by soil carbon nitrogen ratios. *Frontiers in Microbiology*. 2018. – V. 9. – 1815. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01815>
169. Nicoletti R., Becchimanzi A. Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. *Agriculture*. 2020. – V. 10 (6). – P. 205–221. <https://doi.org/10.3390/agriculture10060205>
170. Nilsson L.A. Processes of isolation and introgressive interplay between *Platanthera bifolia* (L.) Rich and *P. chlorantha* (Custer) Reichb. (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 1983. – V. 87 (4). – P. 325–350. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1983.tb00997.x>
171. Nilsson R.H., Larsson K.H., Taylor A.F.S., Bengtsson-Palme J., Jeppesen T.S., Schigel D., Kennedy P., Picard K., Glöckner F.O., Tedersoo L., Saar I., Kõljalg U., Abarenkov K. The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*. 2018. – V. 47 (1). – P. 259–264. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>
172. Oberwinkler F., Riess K., Bauer R., Kirschner R., Garnica S. Taxonomic re-evaluation of the *Ceratobasidium-Rhizoctonia* complex and *Rhizoctonia butinii*, a new species attacking spruce. *Mycological Progress*. 2013. – V. 12. – P. 763–776. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0936-0>
173. Oberwinkler F., Cruz D., Suárez J.P. Biogeography and ecology of Tulasnellaceae. In: *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Berlin: Springer. 2017. – P. 237–271. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56363-3_12
174. Ogura-Tsujita Y., Yokoyama J., Miyoshi K., Yukawa T. Shifts in mycorrhizal fungi during the evolution of autotrophy to mycoheterotrophy in *Cymbidium* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*. 2012. – V. 99 (7). – P. 1158–1176. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100464>

175. Oktalira F.T., May T.W., Dearnaley J.D., Linde C.C. Seven new *Serendipita* species associated with Australian terrestrial orchids. *Mycologia*. 2021. – V. 113 (5). – P. 968–987. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1919848>
176. Olatunji O.A., Nengim R.O. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 1980. – V. 80 (4). P. 357–370. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1980.tb01669.x>
177. Opperman L., Wehner F.C. Survey of fungi associated with grass roots in virgin soils on the Springbok Flats. *South African Journal of Botany*. 1994. – V. 60 (1). – P. 67–72. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(16\)30662-7](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(16)30662-7)
178. Otero J.T., Ackerman J.D., Bayman P. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany*. 2002. – V. 89 (11). – P. 1852–1858. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.11.1852>
179. Özkale E. Non-mycorrhizal fungal spectrum of root communities. In: *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications*. Berlin: Springer. 2019. – P. 77–85. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_4
180. Parra P.P., Dantes W., Sandford A., de la Torre C., Pérez J., Hadziabdic D., Schaffer B., Gazis R. Rapid detection of the laurel wilt pathogen in sapwood of Lauraceae hosts. *Plant Health Progress*. 2020. – V. 21 (4). – P. 356–364. <https://doi.org/10.1094/PHP-06-20-0049-RS>
181. Pecoraro L., Wang X., Venturella G., Gao W., Wen T., Gafforov Y., Gupta V.K. Molecular evidence supports simultaneous association of the achlorophyllous orchid *Chamaegastrodia inverta* with ectomycorrhizal Ceratobasidiaceae and Russulaceae. *BMC microbiology*. 2020. – V. 20 (1). – P. 236–249. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01906-4>
182. Perotto S., Rodda M., Benetti A., Sillo F., Ercole E., Rodda M., Girlanda M., Murat C., Balestrini R. Gene expression in mycorrhizal orchid protocorms suggests a friendly plant–fungus relationship. *Planta*. 2014. – V. 239 (6). – P. 1337–1349. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2062-x>.
183. Peršoh D. Plant-associated fungal communities in the light of meta'omics. *Fungal Diversity*. 2015. – V. 75 (1). – P. 1–25. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0334-9>
184. Perveen I., Raza M.A., Iqbal T., Naz I., Sehar S., Ahmed S. Isolation of anticancer and antimicrobial metabolites from *Epicoccum nigrum*; endophyte of *Ferula sumbul*. *Microbial pathogenesis*. 2017. – V. 110. – P. 214–224. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.033>
185. Petrolli R., Augusto Vieira C., Jakalski M., Bocayuva M.F., Vallé C., Cruz E.D., Seloosse M.A., Martos F., Kasuya M.C. A fine-scale spatial analysis of fungal communities on tropical tree bark unveils the epiphytic rhizosphere in orchids. *New Phytologist*. 2021. – V. 231 (5). – P. 2002–2014. <https://doi.org/10.1111/nph.17459>

186. Porembski S., Barthlott W. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. *Nordic Journal of Botany*. 1988. – V. 8 (2). – P. 117–137. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1988.tb00491.x>
187. Porter J.N. The mycorrhiza of *Zeuxine strateumatica*. *Mycologia*. 1942. – V. 34 (4). – P. 380–390. <https://doi.org/10.1080/00275514.1942.12020907>
188. Qin J., Zhang W., Feng J.Q., Zhang S.B. Leafless epiphytic orchids share Ceratobasidiaceae mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 2021a. – V. 31 (5). – P. 625–635. <https://doi.org/10.1007/s00572-021-01043-4>
189. Qin J., Feng J.Q., Zhang W., Zhang S.B. Mycorrhizal fungal partners remain constant during a root lifecycle of *Pleione bulbocodioides* (Orchidaceae). *Journal of Fungi*. 2021b. – V. 7 (11). – P. 1–13. <https://doi.org/10.3390/jof7110994>
190. Radhakrishnan G.V., Keller J., Rich M.K., Vernié T., Mbadinga Mbadinga D.L., Vigneron N., Cottret L., Clemente H.S., Libourel C., Cheema J., Linde A.M. An ancestral signalling pathway is conserved in intracellular symbioses-forming plant lineages. *Nature Plants*. 2020. – V. 6 (3). – P. 280–289. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0613-7>
191. Rana K.L., Kour D., Kaur T., Devi R., Yadav A.N., Yadav N., Dhaliwal H.S., Saxena A.K. Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2020. – V. 113. – P. 1075–1107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00012-9>
192. Rambaut A. FigTree v.1.4.4. 2018. [доступ 8 февраля 2023]. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
193. Ramesh G., Ramudu J., Khasim S.M., Thammasiri K. Structural Adaptations of *Bulbophyllum* and *Dendrobium* (Orchidaceae) to the Epiphytic Habitat and Their Phylogenetic Implications. *Orchid Biology: Recent Trends & Challenges*. 2020. – P. 303–342. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1_15
194. Rammitsu K., Yagame T., Yamashita Y., Yukawa T., Isshiki S., Ogura-Tsujita Y. A leafless epiphytic orchid, *Taeniophyllum glandulosum* Blume (Orchidaceae), is specifically associated with the Ceratobasidiaceae family of basidiomycetous fungi. *Mycorrhiza*. 2019. – V. 29. – P. 159–166. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00881-7>
195. Rammitsu K., Abe S., Abe T., Kotaka N., Kudaka M., Kudaka N., Kinoshita A., Ogura-Tsujita Y. The endangered epiphytic orchid *Dendrobium okinawense* has a highly specific mycorrhizal association with a single Tulasnellaceae fungus. *Journal of Forest Research*. 2021. – V. 26 (3). – P. 215–221. <https://doi.org/10.1080/13416979.2021.1876587>

196. Ranathunge N.P., Sandani H.B. Deceptive behaviour of *Colletotrichum truncatum*: strategic survival as an asymptomatic endophyte on non-host species. *Journal of Plant Protection Research*. 2016. – V. 56 (2). – P. 157–162. <https://doi.org/10.1515/jppr-2016-0026>
197. Raper K.B., Thom C. A manual of the Penicillia. Baillière, London: Tindall & Cox. 1949. – 875 p.
198. Rasmussen H.N., Whigham D.F. Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New phytologist*. 2002. – V. 154 (3). – P. 797–807. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00422.x>
199. Robert V., Vu D., Amor A.B., van de Wiele N., Brouwer C., Jabas B., Szoke S., Dridi A., Triki M., Daoud S.B., Chouchen O. MycoBank database. 2013. [Дата доступа 01.05.2023]
200. Roberts P. *Thanatephorus ochraceus*: a saprotrophic and orchid endomycorrhizal species. *Sydowia*. 1998. – V. 50. – P. 252–256.
201. Roche S.A., Carter R.J., Peakall R., Smith L.M., Whitehead M.R., Linde C.C. A narrow group of monophyletic *Tulasnella* (Tulasnellaceae) symbiont lineages are associated with multiple species of *Chiloglottis* (Orchidaceae): implications for orchid diversity. *American Journal of Botany*. 2010. – V. 97 (8). – P. 1313–1327. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000049>
202. Rogers J.D. *Xylaria bulbosa*, *Xylaria curta*, and *Xylaria longipes* in continental United States. *Mycologia*. 1983. – V. 75 (3). – P. 457–467. <https://doi.org/10.1080/00275514.1983.12023709>
203. Rosling A., Cox F., Cruz-Martinez K., Ihrmark K., Grelet G.A., Lindahl B.D., Menkis, A., James T.Y. Archaeorhizomycetes: unearthing an ancient class of ubiquitous soil fungi. *Science*. 2011. – V. 333 (6044). – P. 876–879. <https://doi.org/10.1126/science.1206958>
204. Roth-Nebelsick A., Thiv M., Malkowsky Y., Schott R., Heyer A. Structure and functional anatomy of the gas exchange apparatus of leafless orchids: evidence for a control mechanism? *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2021. – V. 197 (2). – P. 249–262. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab021>
205. Ruotsalainen A.L., Kauppinen M., Wäli P.R., Saikkonen K., Helander M., Tuomi J. Dark septate endophytes: mutualism from by-products? *Trends in Plant Science*. 2022. – V. 27 (3). – P. 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.10.001>
206. dos Santos C.D., Sousa E.M., Candeias E.L., Vitória N.S., Bezerra J.L., Luz E.D. *Lasiodiplodia theobromae* as an endophyte on Orchidaceae in Bahia. *Agrotrópica*. 2012. – V. 24 (3). – P. 179–182.
207. Sawmya K.O., Vasudevan T.G., Murali T.S. Fungal endophytes from two orchid species pointer towards organ specificity. *Czech Mycol*. 2013. – V. 65 (1). – P. 89–101. <https://doi.org/10.33585/cmy.65107>

208. Schiebold J.M., Bidartondo M.I., Lenhard F., Makiola A., Gebauer G. Exploiting mycorrhizas in broad daylight: partial mycoheterotrophy is a common nutritional strategy in meadow orchids. *Journal of Ecology*. 2018. – V. 106 (1). – P. 168–178. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12831>
209. Schweiger J.M., Kemnade C., Bidartondo M.I., Gebauer G. Light limitation and partial mycoheterotrophy in rhizoctonia-associated orchids. *Oecologia*. 2019. – V. 189 (2). – P. 375–383. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04340-0>
210. Selosse M.A., Faccio A., Scappaticci G., Bonfante P. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. *Microbial Ecology*. 2004. – V. 47 (4). – P. 416–426. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-2034-3>
211. Selosse M., Martos F., Perry B.A., Padamsee M., Roy M., Paillet T. Saprotrophic fungal mycorrhizal symbionts in achlorophyllous orchids: finding treasures among the ‘molecular scraps’? *Plant Signal Behav.* 2010. – V. 5. – P. 349–353.
212. Shah S., Shrestha R., Maharjan S., Selosse M. Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic fungi from the roots of *Dendrobium moniliforme*. *Plants*. 2019. – V. 8 (1). – P. 5–15. <https://doi.org/10.3390/plants8010005>
213. Shao S.C., Wang Q.X., Beng K.C., Zhao D.K., Jacquemyn H. Fungi isolated from host protocorms accelerate symbiotic seed germination in an endangered orchid species (*Dendrobium chrysotoxum*) from southern China. *Mycorrhiza*. 2020. – V. 30 (4). – P. 529–539. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00964-w>
214. Sharma S.K., Gupta G.K., Ramteke R.A. *Colletotrichum truncatum* [(Schw.) Andrus & WD Moore], the causal agent of anthracnose of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] – A Review. *Soybean Res.* 2011. – V. 9. – P. 31–52.
215. Shefferson R.P., Cowden C.C., McCormick M.K., Yukawa T., Ogura-Tsujita Y.U., Hashimoto T. Evolution of host breadth in broad interactions: mycorrhizal specificity in East Asian and North American rattlesnake plantains (*Goodyera* spp.) and their fungal hosts. *Molecular Ecology*. 2010. – V. 19 (14). – P. 3008–3017. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04693.x>
216. Sinn B.T., Barrett C.F. Ancient mitochondrial gene transfer between fungi and the orchids. *Molecular Biology and Evolution*. 2020. – V. 37 (1). – P. 44–57. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz198>
217. Soelistijono R., Utami D.S., Faizim M., Dian R. Characterization of *Rhizoctonia*-like mycorrhizae associated with five *Dendrobium* species in Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal*

- of Biological Diversity. 2020. – V. 21 (3). – P. 1007–1011. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210321>
218. Soltani T., Yarahmadi F., Rajabpour A., Ghoddom Parizi Pour M.H. Pathogenicity of Iranian isolates of *Akanthomyces lecanii* and *A. muscarius* on the black bean aphid (*Aphis fabae* Scopoli). Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture). 2022. – V. 45 (1). – P. 19–28. <https://doi.org/10.22055/PPR.2021.17246>
219. Srivastava S., Kadooka C., Uchida J.Y. *Fusarium* species as pathogen on orchids. Microbiological research. 2018. – V. 207. – P. 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.002>
220. Stevens P.F. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>
221. Strullu-Derrien C., Selosse M.A., Kenrick P., Martin F.M. The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. New Phytologist. 2018. – V. 220 (4). – P. 1012–1030. <https://doi.org/10.1111/nph.15076>
222. Suárez J.P., Eguiguren J.S., Herrera P., Jost L. Do mycorrhizal fungi drive speciation in *Teagueia* (Orchidaceae) in the upper Pastaza watershed of Ecuador? Symbiosis. 2016. – V. 69 (3). – P. 161–168. <https://doi.org/10.1007/s13199-016-0399-6>
223. Suetsugu K., Yamato M., Miura C., Yamaguchi K., Takahashi K., Ida Y., Shigenobu S., Kaminaka H. Comparison of green and albino individuals of the partially mycoheterotrophic orchid *Epipactis helleborine* on molecular identities of mycorrhizal fungi, nutritional modes and gene expression in mycorrhizal roots. Molecular Ecology. 2017. – V. 26 (6). – P. 1652–1669. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
224. Suetsugu K., Yamato M., Matsubayashi J., Tayasu I. Comparative study of nutritional mode and mycorrhizal fungi in green and albino variants of *Goodyera velutina*, an orchid mainly utilizing saprotrophic rhizoctonia. Molecular Ecology. 2019. – V. 28 (18). – P. 4290–4299. <https://doi.org/10.1111/mec.15213>
225. Suetsugu K., Matsuoka S., Shutoh K., Okada H., Taketomi S., Onimaru K., Tanabe A.S., Yamanaka H. Mycorrhizal communities of two closely related species, *Pyrola subaphylla* and *P. japonica*, with contrasting degrees of mycoheterotrophy in a sympatric habitat. Mycorrhiza. 2021. – V. 31. – P. 219–229. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-01002-5>
226. Sun M. The allopolyploid origin of *Spiranthes hongkongensis* (Orchidaceae). American Journal of Botany. 1996. – V. 83 (2). – P. 252–260. <https://doi.org/10.2307/2445944>
227. Tashiro N. Citrus sooty blotch caused by *Cladosporium cladosporioides*. Jpn J Phytopathol. 2011. – V. 77. – P. 36.

228. Teh L.Y., Latiffah Z. Occurrence and molecular characterization of *Aspergillus* species in beach sand. *Malaysian Applied Biology*. 2015. – V. 44 (2). – P. 119–127.
229. Teixeira da Silva J.A., Tsavkelova E.A., Ng T.B., Parthibhan S., Dobránszki J., Cardoso J.C., Rao M.V., Zeng S. Asymbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*. *Plant cell reports*. 2015a. – V. 34. – P. 1685–1706. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1829-2>
230. Teixeira da Silva J.A., Tsavkelova E.A., Zeng S., Ng T.B., Parthibhan S., Dobránszki J., Cardoso J.C., Rao M.V. Symbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*: fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development. *Planta*. 2015b. – V. 242 (1). – P. 1–22. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2301-9>
231. Teoh E.S. Orchids as Aphrodisiac, Medicine or Food. Berlin: Springer. 2019. 375 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-18255-7>
232. Thomidis T., Michailides T.J. Studies on *Diaporthe eres* as a new pathogen of peach trees in Greece. *Plant Disease*. 2009. – V. 93 (12). – P. 1293–1297. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-12-1293>
233. Toda T., Hayakawa T., Mghalu J.M., Yaguchi S., Hyakumachi M. A new *Rhizoctonia* sp. closely related to *Waitea circinata* causes a new disease of creeping bentgrass. *Journal of General Plant Pathology*. 2007. – V. 73. – P. 379–387. <https://doi.org/10.1007/s10327-007-0045-5>
234. Trifinopoulos J., Nguyen L.T., von Haeseler A., Minh, B.Q. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*. 2016. – V. 44 (1). – P. 232–235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
235. Tsavkelova E.A., Lobakova E.S., Kolomeitseva G.L., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Localization of Associative Cyanobacteria on the Roots of Epiphytic Orchids. *Microbiology*. 2003. – V. 72 (1). – P. 99–104. <https://doi.org/10.1023/A:1022238309083>
236. Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Botina S.G., Netrusov A.I. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*. 2007. – V. 162 (1). P. 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.07.014>
237. Tsavkelova E.A., Bömke C., Netrusov A.I., Weiner J., Tudzynski B. Production of gibberellic acids by an orchid-associated *Fusarium proliferatum* strain. *Fungal genetics and Biology*. 2008. – V. 45 (10). – P. 1393–1403. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2008.07.011>
238. Tsavkelova E.A. Bacteria associated with orchid roots. In: *Bacteria in agrobiolgy: plant growth responses*. Berlin: Springer. 2011. – P. 221–258. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9_11
239. Tsiftsis S., Tsiripidis I., Papaioannou A. Ecology of the orchid *Goodyera repens* in its southern distribution limits. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects*

of Plant Biology. 2012. – V. 146 (4). – P. 857–866.
<https://doi.org/10.1080/11263504.2011.642416>

240. Tu C.C., Kimbrough J.W. Systematics and phylogeny of fungi in the *Rhizoctonia* complex. Botanical Gazette. 1970. – V. 139 (4). – P. 454–466. <https://doi.org/10.1086/337021>

241. Tuncer S., Eken C. Anastomosis grouping of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* spp. isolated from pepper in Erzincan, Turkey. Plant Protection Science. 2013. – V. 49 (3). – P. 127–131. <https://doi.org/10.17221/77/2012-PPS>

242. Udayanga D., Castlebury L.A., Rossman A.Y., Chukeatirote E., Hyde K.D. The *Diaporthe sojae* species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. Fungal Biology. 2015. – V. 119 (5). – P. 383–407. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.10.009>

243. Urooj F.A., Farhat H.A., Ali S.A., Ahmed M., Sultana V., Shams Z.I., Ara J., Ehteshamul-Haque S. Role of endophytic *Penicillium* species in suppressing the root rotting fungi of sunflower. Pak. J. Bot. 2018. – V. 50 (4). – P. 1621–1628.

244. Valadares R.B., Perotto S., Lucheta A.R., Santos E.C., Oliveira R.M., Lambais M.R. Proteomic and transcriptomic analyses indicate metabolic changes and reduced defense responses in mycorrhizal roots of *Oeceoclades maculata* (Orchidaceae) collected in nature. Journal of Fungi. 2020. – V. 6 (3). – P. 148–168. <https://doi.org/10.3390/jof6030148>.

245. Valadares R.B., Marroni F., Sillo F., Oliveira R.R., Balestrini R., Perotto S. A transcriptomic approach provides insights on the mycorrhizal symbiosis of the mediterranean orchid *Limodorum abortivum* in nature. Plants. 2021. – V. 10 (2). – P. 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants10020251>.

246. Vaz A.B., Mota R.C., Bomfim M.R., Vieira M.L., Zani C.L., Rosa C.A., Rosa L.H. Antimicrobial activity of endophytic fungi associated with Orchidaceae in Brazil. Canadian journal of microbiology. 2009. – V. 55 (12). – P. 1381–1391. <https://doi.org/10.1139/W09-101>

247. Veldre V., Abarenkov K., Bahram M., Martos F., Selosse M.A., Tamm H., Kõljalg U., Tedersoo L. Evolution of nutritional modes of Ceratobasidiaceae (Cantharellales, Basidiomycota) as revealed from publicly available ITS sequences. Fungal ecology. 2013. – V. 6 (4). – P. 256–268. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.03.004>

248. Ventre Lespiaucq A., Jacquemyn H., Rasmussen H.N., Méndez M. Temporal turnover in mycorrhizal interactions: a proof of concept with orchids. New Phytologist. 2021. – 230 (5). – P. 1690–1699. <https://doi.org/10.1111/nph.17291>

249. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry. 2008. – V. 40 (1). – P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>

250. Vogt-Schilb H., Těšitelová T., Kotlínek M., Sucháček P., Kohout P., Jersáková J. Altered rhizoctonia assemblages in grasslands on ex-arable land support germination of mycorrhizal generalist, not specialist orchids. *New Phytologist*. 2020. – V. 227 (4). – P. 1200–1212. <https://doi.org/10.1111/nph.16604>
251. Voronina, E.Y., Malysheva, E.F., Malysheva, V.F., Dmitriev, G.V., Tiunov, A.V., Kovalenko, A.E. A mixotrophy is in question: new data on fungal community associated with photosynthetic terrestrial orchid *Goodyera repens*. *Botanica Pacifica*. 2018. – V. 7 (1). – P. 51–61. <https://doi.org/10.17581/bp.2018.07106>
252. Vu T., Hauschild R., Sikora R.A. *Fusarium oxysporum* endophytes induced systemic resistance against *Radopholus similis* on banana. *Nematology*. 2006. – V. 8 (6). – P. 847–852. <https://doi.org/10.1163/156854106779799259>
253. Wang D., Lerou J., Nuytinck J., Gomes S.I., Jacquemyn H., Merckx V.S. Root-associated Fungi in Orchidaceae: Diversity, Phylogeny, Ecology, and Outstanding Questions. *bioRxiv*. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.12.16.519622>
254. Warcup J.H., Talbot P.H.B. Perfect stages of Rhizoctonias associated with orchids. *New Phytologist*. 1967. – V. 66 (4). – P. 631–641. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1967.tb05434.x>
255. Waud M., Busschaert P., Lievens B., Jacquemyn H. Specificity and localised distribution of mycorrhizal fungi in the soil may contribute to co-existence of orchid species. *Fungal Ecology*. 2016a. – V. 20. – P. 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.12.008>
256. Waud M., Wiegand T., Brys R., Lievens B., Jacquemyn H. Nonrandom seedling establishment corresponds with distance-dependent decline in mycorrhizal abundance in two terrestrial orchids. *New Phytologist*. 2016b. – 211 (1). – P. 255–264. <https://doi.org/10.1111/nph.13894>
257. Wei C.M., Hansen B.S., Vaughan Jr M.H., McLaughlin C.S. Mechanism of action of the mycotoxin trichodermin, a 12, 13-epoxytrichothecene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1974. – V. 71 (3). – P. 713–717. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.3.713>
258. Weiß M., Waller F., Zuccaro A., Selosse M.A. Sebacinales – one thousand and one interactions with land plants. *New Phytologist*. 2016. – V. 211 (1). – P. 20–40. <https://doi.org/10.1111/nph.13977>
259. Wu J.B., Zhang C.L., Mao P.P., Qian Y.S., Wang H.Z. First report of leaf spot caused by *Nigrospora oryzae* on *Dendrobium candidum* in China. *Plant Disease*. 2014. – V. 98 (7). – P. 996. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-13-1006-PDN>

260. Xing X., Guo S. Fungal endophyte communities in four Rhizophoraceae mangrove species on the south coast of China. *Ecological research*. 2011. – V. 26. – P. 403–409. <https://doi.org/10.1007/s11284-010-0795-y>
261. Xing Y.M., Chen J., Cui J.L., Chen X.M., Guo S.X. Antimicrobial activity and biodiversity of endophytic fungi in *Dendrobium devonianum* and *Dendrobium thyrsiflorum* from Vietman. *Current microbiology*. 2011. – V. 62. – P. 1218–1224. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9848-2>
262. Xing X., Ma X., Deng Z., Chen J., Wu F., Guo S. Specificity and preference of mycorrhizal associations in two species of the genus *Dendrobium* (Orchidaceae). *Mycorrhiza*. 2013. – V. 23 (4). – P. 317–324. <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0473-8>
263. Xing X., Gao Y., Zhao Z., Waud M., Duffy K.J., Selosse M.A., Jakalski M., Liu N., Jacquemyn H., Guo S. Similarity in mycorrhizal communities associating with two widespread terrestrial orchids decays with distance. *Journal of Biogeography*. 2020a. – V. 47 (2). – P. 421–433. <https://doi.org/10.1111/jbi.13728>
264. Xing X., Liu Q., Gao Y., Shao S., Guo L., Jacquemyn H., Zhao Z., Guo S. The architecture of the network of orchid–fungus interactions in nine co-occurring *Dendrobium* species. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2020b. – V. 8. – P. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00130>
265. Xu J., Guo S. Retrospect on the research of the cultivation of *Gastrodia elata* Bl, a rare traditional Chinese medicine. *Chin Med J*. 2000. – V. 113. – P. 686–692. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2000.08.104>
266. Xu W., Wang F., Wang R., Sui Y., Zhou Z., Xie J., Xiang Z. Seasonal characterization of the endophytic fungal microbiome of mulberry (*Morus* spp.) cultivars resistant and susceptible to sclerotiniosis. *Microorganisms*. 2021. – V. 9 (10). – P. 2052. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102052>
267. Xu Y., Lei Y., Su Z., Zhao M., Zhang J., Shen G., Wang L., Li J., Qi J., Wu J. A chromosome-scale *Gastrodia elata* genome and large-scale comparative genomic analysis indicate convergent evolution by gene loss in mycoheterotrophic and parasitic plants. *The Plant Journal*. 2021. – V. 108 (6). – P. 1609–1623. <https://doi.org/10.1111/tpj.15528>
268. Yagame T., Yamato M., Suzuki A., Iwase K. Ceratobasidiaceae mycorrhizal fungi isolated from nonphotosynthetic orchid *Chamaegastrodia sikokiana*. *Mycorrhiza*. 2008. – V. 18. – P. 97–101. <https://doi.org/10.1007/s00572-007-0155-0>
269. Yang Y.G., Zhao C., Guo Z.J., Wu X.H. Characterization of a new anastomosis group (AG-W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem canker. *Plant Disease*. 2015. – V. 99 (12). – P. 1757–1763. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0036-RE>

270. Yarmeeva, M.M., Kokaeva, L.Y., Chudinova, E.M. et al. Anastomosis groups and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* strains isolated from potato in Russia. *J Plant Dis Prot.* 2021. – V. 128. – P. 1253–1261. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00490-7>
271. Yuan Z.L., Zhang C.L., Lin F.C. Role of diverse non-systemic fungal endophytes in plant performance and response to stress: progress and approaches. *Journal of Plant Growth Regulation.* 2010. – V. 29. – P. 116–126. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9112-9>
272. Yuan Y., Jin X., Liu J., Zhao X., Zhou J., Wang X., Wang D., Lai C., Xu W., Huang J., Zha L. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy. *Nature Communications.* 2018. – V. 9 (1). – P. 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03423-5>
273. Zainudin N.A., Zaini N.A., Nizam N.H., Abidin D.F., Nazri N.I. Diversity of endophytic fungi associated with fruits and leaves of tamarind (*Tamarindus indica* L.) based on ITS ribosomal DNA. *BIOTROPIA-The Southeast Asian Journal of Tropical Biology.* 2021. – V. 28 (3). – P. 221–230. <https://doi.org/10.11598/btb.2021.28.3.1339/>
274. Zettler L.W., Oppenheimer H., Nui M. Hawaii's native orchids: a closer look at the trio. *Orchids.* 2012. – V. 81 (2). – P. 100–101.
275. Zhang L., Wang J.T., Zhang D.W., Zhang G., Guo S.X. Molecular characterization of a HMG-CoA reductase gene from a rare and endangered medicinal plant, *Dendrobium officinale*. *Acta pharmaceutica Sinica.* 2014. – P. 49 (3). – P. 411–418.
276. Zhang G.Q., Xu Q., Bian C., Tsai W.C., Yeh C.M., Liu K.W., Yoshida K., Zhang L.S., Chang S.B., Chen F., Shi Y. The *Dendrobium catenatum* Lindl. genome sequence provides insights into polysaccharide synthase, floral development and adaptive evolution. *Scientific reports.* 2016. – V. 6 (1). – P. 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep19029>.
277. Zhang G.Q., Liu K.W., Li Z., Lohaus R., Hsiao Y.Y., Niu S.C., Wang J.Y., Lin Y.C., Xu Q., Chen L.J., Yoshida K. The *Apostasia* genome and the evolution of orchids. *Nature.* 2017. – V. 549 (7672). – P. 379–383. <https://doi.org/10.1038/nature23897>.
278. Zhang W., Liu J.X., Huo P.H., Nan Z.B. *Curvularia lunata* causes a leaf spot on Carpetgrass (*Axonopus compressus*) in China. *Plant Disease.* 2017. – V. 101 (3). – P. 507. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1354-PDN>
279. Zhang S., Yang Y., Li J., Qin J., Zhang W., Huang W., Hu H. Physiological diversity of orchids. *Plant diversity.* 2018. – V. 40 (4). – P. 196–208. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.003>
280. Zhang G.Q., Chen G.Z., Chen L.J., Lan S.R. *Cymbidium yunnanensis*: a new orchid species (Orchidaceae; Epidendroideae) from China based on morphological and molecular

evidence. *Phytotaxa*. 2019. – V. 387 (2). – P. 149–157. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.387.2.7>

281. Zhao X., Zhang J., Chen C., Yang J., Zhu H., Liu M., Lu F. Deep sequencing-based comparative transcriptional profiles of *Cymbidium hybridum* roots in response to mycorrhizal and non-mycorrhizal beneficial fungi. *BMC genomics*. 2014. – V. 15 (1). – P. 1–22. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-747>.

282. Zheng H., Qiao M., Lu Y., Du X., Zhang K.Q., Yu Z. New species of *Trichoderma* isolated as endophytes and saprobes from southwest China. *Journal of fungi*. 2021. – V. 7 (6). – P. 467. <https://doi.org/10.3390/jof7060467>

283. Zhou S., Liu Y., Zhang M., Li B., Chen X., Liang W. Comparison of the virulence and cognate virulence factors of multinucleate, binucleate and uninucleate *Rhizoctonia* isolates, causing sheath blight on maize plants. *European journal of plant pathology*. 2016. – V. 145. – P. 501–506. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0855-9>

284. Zhu G.S., Yu Z.N., Gui Y., Liu Z.Y. A novel technique for isolating orchid mycorrhizal fungi. *Fungal Divers*. 2008. – V. 33. – P. 123–137.

7. Приложения

Приложение 1 Почвенные изоляты, не выявленные в образцах корней *G. repens*

Вид	Регион
<i>Aspergillus flavus</i>	М
<i>Penicillium chrysogenum</i>	М
<i>Penicillium citrinum</i>	М
<i>Penicillium janczewskii</i>	К
<i>Thysanophora penicillioides</i>	К
<i>Fusarium oxysporum</i>	М
<i>Tolypocladium album</i>	М
<i>Trichoderma virens</i>	М
<i>Mortierella alpina</i>	К
<i>Mortierella humilis</i>	К
<i>Umbelopsis dimorpha</i>	М
<i>Naganishia albida</i>	М
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	К, Л, М

Приложение 2. Средние значения диаметра зоны подавления изолятов

Диаметр зоны подавления, мм	Материал	<i>B. subtilis</i>			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>			<i>A. niger</i>	
		А	Ж	Э	Э	А	Ж	Э	Э	А	Ж	Э	А	Ж
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	<i>Eg</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Diaporthe phaseolorum</i>	<i>Zs</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Sh</i>	16,8	–	–	–	Н	–	–	–	17,2	–	–	Н	–
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Sh</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	14,8	–	–	Н	–
<i>Curvularia lunata</i>	<i>Zs</i>	Н	–	6,0	9,0	Н	–	8,0	7,0	Н	–	Н	11,2	–
<i>Pithomyces cynodontis</i>	<i>Eg</i>	10,6	–	–	–	Н	–	–	–	9,4	–	–	Н	–
<i>Alternaria tenuissima</i>	<i>Zs</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	17,0	–	–	Н	–
<i>Aspergillus aculeatus</i>	<i>Eg</i>	Н	16,7	–	–	Н	15,6	–	–	21,8	–	–	Н	Н
<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>ΠGr</i>	25,6	Н	–	–	Н	Н	–	–	Н	Н	–	Н	Н
<i>Penicillium citrinum</i>	<i>ΠGr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Talaromyces pinophilus</i>	<i>Sh</i>	Н	–	10,0	12,0	Н	–	9,0	12,0	13,5	–	7,0	Н	–
<i>Talaromyces pinophilus</i>	<i>Eg</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	10,2	–	–	Н	–
<i>Scytalidium circinatum</i>	<i>Zs</i>	18,2	–	14,0	15,0	Н	–	Н	13,0	13,3	–	Н	Н	–
<i>Neopestalotiopsis clavispora</i>	<i>Eg</i>	Н	Н	–	–	Н	Н	–	–	23,8	12,3	–	Н	Н
<i>Colletotrichum truncatum</i>	<i>Gr</i>	19,0	–	–	–	Н	–	–	–	10,3	–	–	Н	–
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Eg</i>	10,8	14,0	–	–	Н	15,0	–	–	21,8	17,2	–	Н	Н
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>ΠGr</i>	14,6	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Sh</i>	Н	10,0	–	–	Н	Н	–	–	Н	Н	–	24,4	Н
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Zs</i>	13,2	10,8	–	–	Н	Н	–	–	34,4	Н	–	Н	Н
<i>Metacordyceps chlamydosporia</i>	<i>Gr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Gr</i>	10,6	–	–	–	Н	–	–	–	10,0	–	–	11,6	–
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	<i>Zs</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	20,0	–	–	11,0	–
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<i>Gr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	16,4	–
<i>Trichoderma viride</i>	<i>Eg</i>	16,6	–	–	–	Н	–	–	–	17,4	–	–	14,0	–
<i>Trichoderma virens</i>	<i>ΠGr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Trichoderma virens</i>	<i>Eg</i>	12,6	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Trichoderma virens</i>	<i>ΠGr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	11,6	–	–	Н	–
<i>Trichoderma virens</i>	<i>ΠGr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	12,6	–
<i>Trichoderma viride</i>	<i>ΠGr</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	19,6	–	–	16,6	–
<i>Nigrospora oryzae</i>	<i>Sh</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	12,5	–	–	Н	–
<i>Nigrospora oryzae</i>	<i>Sh</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Nigrospora sp.</i>	<i>Sh</i>	Н	–	6,0	10,0	Н	–	Н	9,0	13,6	–	7,0	Н	–
<i>Nigrospora sp.</i>	<i>Sh</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–
<i>Annulohypoxyton nitens</i>	<i>Pp</i>	Н	–	–	–	Н	–	–	–	Н	–	–	Н	–

<i>Annulohypoxydon stygium</i>	<i>Pp</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Annulohypoxydon thailandicum</i>	<i>Pp</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	11,6	–	–	H	–
<i>Microthecium sp.</i>	<i>Pp</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Tolypocladium album</i>	<i>ПGr</i>	20,4	H	–	–	H	H	–	–	13,2	H	–	H	H
<i>Ceratobasidium sp1</i>	<i>Zs</i>	H	–	H	H	H	–	H	H	H	–	H	H	–
<i>Ceratobasidium sp2</i>	<i>Sh</i>	H	–	H	H	H	–	H	H	H	–	H	H	–
<i>Ceratobasidium sp3</i>	<i>Gr</i>	16,6	–	25,0	34,0	H	–	18,0	18,0	12,2	–	H	H	–
<i>Mortierella verticillata</i>	<i>ПGr</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Mortierella verticillata</i>	<i>ПGr</i>	17,4	–	–	–	H	–	–	–	14,4	–	–	H	–
<i>Mortierella verticillata</i>	<i>ПGr</i>	15,4	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Absidia glauca</i>	<i>ПGr</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	13,4	–	–	H	–
<i>Absidia heterospora</i>	<i>Gr</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	13,8	–	–	H	–
<i>Umbelopsis dimorpha</i>	<i>ПGr</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	10,2	–	–	H	–
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>ПGr</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>Gr</i>	10,2	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>Gr</i>	17,0	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>Gr</i>	19,8	H	–	–	22,6	H	–	–	12,8	H	–	H	H
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>ПGr</i>	H	9,6	–	–	H	H	–	–	23,6	9,0	–	H	H
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>ПGr</i>	15,6	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–
<i>Umbelopsis isabellina</i>	<i>ПGr</i>	H	–	–	–	H	–	–	–	H	–	–	H	–

А – агаризованная среда, Ж – культуральная жидкость, Э – экстракт, Н – активность не выявлена, «–» – измерение не проводилось. Красный цвет соответствует слабой активности, желтый – заметной, зеленый – выраженной, синий – высокой. Gr – *G. repens*, ПGr – почва из под куртин *G. repens*, Sh – *S. hongkongensis*, Pp – *P. purpuratum*, Eg – *E. graminea*, Zs – *Z. strateumatica*

Приложение 3. ОТЕ сапротрофов IV квартили, выявленные в корнях *G. repens*

	Порядок	Таксон	Регион
Ascomycota	Pleosporales	<i>Plenodomus biglobosus</i>	К
		<i>Alternaria alternata</i>	К
	Eurotiales	<i>Penicillium raistrickii</i>	Л
	Helotiales	<i>Infundichalara microchona</i>	Л
		<i>Tricladium biappendiculatum</i>	Л
	Hypocreales	<i>Metapochonia bulbillosa</i>	М
	Pezizales	<i>Desmazierella acicola</i>	М
		<i>Otidea propinquata</i>	К
Basidiomycota	Agaricales	<i>Hypsizyqus marmoreus</i>	К
		<i>Mycena capillaripes</i>	К
		<i>Mycena leptcephala</i>	К
		<i>Mycena metata</i>	М
		<i>Mycena pura</i>	К
		<i>Mycena sanguinolenta</i>	М
		<i>Mycena zephirus</i>	К
		<i>Omphaliaster asterophorus</i>	М
	Atheliales	<i>Fibulomyces fusoides</i>	М
	Atractiellales	<i>Bourdotigloea</i> sp.	М