

ВИДОВОЙ СОСТАВ ГРИБОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЛИСТЬЯМИ *SOLANUM DULCAMARA* И *S. TUBEROSUM*.

Кокаева Л.Ю., Хуснетдинова Т.И., Берёзов Ю.И., Балабко П.Н., Еланский С.Н.
МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

Взаимодействие растения с грибами может развиваться в нескольких направлениях. Лист растения создает нишу для обитания грибов филлопланы, составляющих микобиоту поверхности листьев, эндофитных грибов, которые живут внутри растения, но не вызывают заболевания растения, фитопатогенных грибов и сапротрофов, которые питаются ослабленными или отмирающими тканями.

В нашей работе было проведено изучение микобиоты листьев двух видов растений семейства Пасленовые: дикого паслена сладко-горького (*Solanum dulcamara* L.), и 2-х сортов картофеля: Сирень и Жуковский ранний. Исследование проведено в условиях города, в ботаническом саду МГУ имени М.В. Ломоносова на Ленинских горах – территории далекой от с/х посадок.

Сразу после сбора листья замораживали при -75°C для последующего выделения ДНК, либо закладывали во влажные камеры для выделения чистых культур. Видовую принадлежность определяли с помощью клонирования в *E. coli* и последующего секвенирования видоспецифичных фрагментов ДНК, в качестве которых использовали участки рибосомной ДНК грибов, включая регионы ITS1 и ITS2. Амплификацию из тотальной ДНК пораженного листа проводили с помощью праймеров ITS1f и ITS4. Для более полного выявления видового состава грибов из пораженных листьев тех же растений выделяли чистые культуры грибов.

Исследования 4 образцов пораженных листьев с помощью клонирования и 16 образцов методом выделения чистых культур выявили присутствие 14 видов грибов на листьях паслена сладко-горького: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Aureobasidium pullulans* (de Bary) G. Arnaud, *Boeremia exigua* (Desm.) Aveskamp, Gruyter & Verkley, *Botrytis cinerea* Pers., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link, *Cladosporium tenuissimum* Cooke, *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Coniothyrium fuckelii* Sacc., *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Phoma herbarum* Westend., *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk., *Thielavia basicola* Zopf. Видовую принадлежность 4 образцов установить не удалось: *Cryptococcus* sp., *Mycosphaerella* sp., *Phialophora* sp., *Phoma* sp.

Большинство выделенных видов были типичными патогенами пасленовых. Нужно отметить, что во всех исследованных образцах листьев методами клонирования было выявлено одновременное присутствие от 5 до 8 видов грибов. Среди выявленных видов встречались как типичные патогены пасленовых растений, встречающихся в России на картофеле и томате, так и виды, нетипичные для этих культур или ранее не отмеченные в России.

Исследования 2 листьев *Solanum tuberosum* (по одному образцу листьев сортов Сирень и Жуковский ранний) без симптомов поражения с помощью клонирования и последующего секвенирования выявили присутствие 11 видов грибов: *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Cryptococcus wieringae* A. Fonseca, Scorzetti & Fell, *Hymenoscyphus scutula* (Pers.) W. Phillips, *Mycocentrospora acerina* (R. Hartig) Deighton, *Phaeohelotium epiphyllum* (Pers.) Hengstm., *Phaeosphaeria culmorum* (Auersw.) Leuchtm., *Plectosphaerella cucumerina* (Lindf.) W. Gams, *Zalerion arboricola* Buczacki.

При этом на листьях разных сортов были выявлены разные грибы. Только три вида были встречены на обоих сортах: *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Mycocentrospora acerina*. Большая часть ассоциированной с листьями микобиоты

различалась, хотя растения находились на расстоянии менее 1 м друг от друга в одинаковых условиях окружающей среды.

Несколько видов присутствовали одновременно и на картофеле и на паслене сладко-горьком: *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum* и представители *Cryptococcus* sp.

Помимо фитопатогенных грибов и ассоциированной с растениями микобиоты в состав изучаемых видов грибов могли попасть споры грибов из приземного слоя воздуха. Микобиота приземных слоев воздуха может включать пропагулы почвенных грибов, а также видов, развивающихся на поверхности водоемов, растений, разнообразных строительных конструкциях. Флора Ботанического сада включает самые разнообразные виды растений, что также оказало влияние на состав выявленной микобиоты. Так, на листьях картофеля впервые были выявлены сапротрофные виды *Hymenoscyphus scutula*, *Phaeohelotium epiphyllum*, *Zalerion arboricola*.

Среди ассоциированных с листьями видов грибов встречаются и возбудители глубоких микозов, способные поражать людей с пониженным иммунитетом. Так, обнаруженные нами штаммы рода *Cryptococcus* могут быть условно-патогенными для людей. *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill. вызывает криптококковый менингит – заболевание, характеризующееся значительной заболеваемостью и смертностью, в первую очередь у людей с иммунодефицитом, но также и у иммунокомпетентных лиц (Szymczak et al., 2012).

Грибы рода *Alternaria* способны к образованию токсичных для человека веществ (альтертоксин I, тентоксин, тенуазоновая кислота) и имеющих мутагенные свойства альтернариолов (Scott et al., 2012). Возникновение потенциально вредных метаболитов *Alternaria* в пищевых продуктах становится возрастающей экологической проблемой.

Некоторые фитопатогенные грибы, в частности виды родов *Cladosporium* и *Alternaria*, могут выступать как аллергены. Увеличение их концентрации в атмосфере вызывает заболевания у сенсibilизированных лиц (Żukiewicz-Sobczak, 2013). Произрастающие в городе дикие пасленовые могут быть хорошим субстратом для развития аллергенных видов грибов. С другой стороны, на диких пасленовых отмечается развитие не только аллергенных, но и условно-патогенных видов грибов, способных вызывать глубокие микозы у людей со сниженным иммунитетом (Szymczak et al., 2012).

Таким образом, на листьях *S. dulcamara* и *S. tuberosum*, растущих в удалении от посадок культурных пасленовых, было обнаружено 26 таксонов различных грибов и грибоподобных организмов, часть которых являются патогенными для Solanaceae. Часть выявленных видов не были известны как патогены пасленовых растений в России, но отмечались как патогенные для них в других странах. Найдены виды, способные вызвать аллергии и заболевания у людей со сниженным иммунитетом.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 15-29-02512).

Scott P.M., Zhao W., Feng S., Lau B.P.Y. *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether in grain foods in Canada. *Mycotoxin research* 28.4 (2012): 261-266.

Żukiewicz-Sobczak W. The role of fungi in allergic diseases. *Postep Derm Alergol* 30.1 (2013): 42-45.

Szymczak W.A., Sellers R.S., Pirofski L.A. IL-23 Dampens the Allergic Response to *Cryptococcus neoformans* through IL-17–Independent and–Dependent Mechanisms. *The American journal of pathology* 180.4 (2012): 1547-1559.