

Идентификация фомоидных грибов из Микологического гербария ВИЗР (LEP) с помощью молекулярно-генетических методов

Научный руководитель – Ганнибал Филипп Борисович

Гомжина Мария Михайловна

Аспирант

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: gomzhina91@mail.ru

Незаменимыми биоресурсными коллекциями, используемыми для изучения биоразнообразия грибов, являются микологические гербарии. Гербарий Всероссийского института защиты растений (ВИЗР) - LEP является крупнейшей в России коллекцией микроскопических фитопатогенных грибов.

После многолетнего хранения некоторые из ценнейших образцов уже не могут быть использованы для морфологических исследований, но, чаще всего, сохраняют какое-то количество ДНК грибов. Поэтому наряду с морфолого-анатомическими методами, гербарные коллекции начинают изучать с применением молекулярно-генетических подходов.

Фомоидные грибы (*Phoma sensu lato*) - крупная нетаксономическая группа анаморфных аскомицетов, которые широко распространены и могут быть встречены в разных экологических нишах. Значительная их часть представлена фитопатогенами, вызывающими заболевания важных сельскохозяйственных культур.

Всего в Микологическом гербарии LEP хранится 1328 образцов растений, поражённых грибами, которые при депонировании в коллекцию были определены как виды рода *Phoma*. Нами были изучены 39 образцов растений семейств *Asteraceae* (28) и *Brassicaceae* (11). Образцы были собраны на территории России и стран бывшего СССР с 1895 по 1960 годы. Самый старый образец (LEP 129311) имеет возраст 122 года.

Для всех 39 образцов были изучены морфологические признаки пикнид и конидий, а из 29 была успешно экстрагирована ДНК и определены нуклеотидные последовательности ITS-областей рДНК. Для амплификации были использованы стандартные праймеры ITS1F [1]/ITS4 [3] и вложенная ПЦР с праймерами NSA3/NLC2 и NSL1/NLB4 [2]. Также была сконструирована пара праймеров Did2F/Did2R, специфично амплифицирующая ITS-области фомоидных грибов - представителей семейства *Didymellaceae*.

Было показано, что в результате длительного хранения морфологические структуры в большинстве случаев разрушаются и не позволяют получить достаточно информации для корректной идентификации. С помощью молекулярно-генетических признаков до уровня рода было определено 9 образцов, до уровня вида - 20. Таким образом, в Микологическом гербарии LEP представлено 10 родов фомоидных грибов: *Allophoma*, *Ascochyta*, *Boeremia*, *Calophoma*, *Didymella*, *Epicoccum*, *Leptosphaeria*, *Phoma*, *Pseudocercospora*, *Stagonosporopsis*, и 10 видов: *As. phacae*, *B. exigua*, *D. pomorum*, *D. rabiei*, *E. nigrum*, *L. maculans*, *L. sclerotioides*, *Ps. capsellae*, *S. centaurea*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект 14-26-00067).

Источники и литература

- 1) Gardes M., Bruns T.D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts // *Molecular Ecology*. 1993. V. 2. P. 113–118.
- 2) Martin K.J., Rygielwicz P.T. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS-region of environmental DNA extracts // *BMC Microbiology*. 2005. V. 5. № 28.
- 3) White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // *PCR Protocols : A guide to Methods and Applications* (ed. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White), Academic Press: San Diego, U.S.A. 1990. P. 315-322.