

МИКОБИОТА В ДОННЫХ ГРУНТАХ ГОРЯЧИНСКОГО ТЕРМАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА

А. В. Кураков *, А. А. Царелунга

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, e-mail: *kurakov57@mail.ru

Поступила в редакцию 6.09.2023

Культуральным подходом и методом высокопроизводительного секвенирования определены численность колониеобразующих единиц (КОЕ), состав и таксономическая структура грибной биоты в донных грунтах Горячинского геотермального источника (Бурятия, Российская Федерация). Численность грибов в грунтах (0–3 см) в месте выхода источника и водотоке на небольшом расстоянии (3–100 м) варьировала в диапазоне от нескольких единиц до сотни КОЕ в 1 г. Посевами на питательные среды выделено 70 изолятов грибов, 34 морфотипов, из которых 15 идентифицировано до вида и 2 – до рода. Это были термофильные и термотолерантные виды *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. nishimurae*, *A. terreus*, *Melanocarpus albomyces*, *Mycothermus thermophilus*, *Naganishia brisbanensis*, *Penicillium* sp., *Pseudothielavia terricola*, *Rhodotorula* sp., *Scedosporium apiospermum*, *Talaromyces flavus*, *Thermomyces dupontii*, *Thermothielavioides terrestris* и *Vishniacozyma carnescens*. Методом высокопроизводительного секвенирования ITS2 участка рДНК в грунтах источника выявлено на порядок большее разнообразие грибов (149 видов 132 родов), а всего обоими подходами обнаружено 160 видов. Число идентифицированных операционно-таксономических единиц (ОТЕ) до вида составило 64.4%. Помимо аскомицетов и базидиомицетов, которые выявляли в посевах на питательные среды, ДНК-баркодингом показано наличие в грунтах представителей отделов Mucoromycota, Mortierellomycota, Zoopagomycota, Chytridiomycota, Rozellomycota. Причем среди установленных высокопроизводительным секвенированием грибов были не только термотолеранты, но и виды с различной устойчивостью к высоким температурам и трофической ориентацией. Применение обоих подходов дало более детальную информацию о разнообразии грибных организмов в горячем источнике. Однако для выявления видов – обитателей таких экотопов, необходим тщательный анализ их физиолого-биохимических свойств (который для многих таксонов отсутствует в должном объеме) и использование иных подходов.

Ключевые слова: грибы, термальные источники, донные грунты.

DOI: 10.47021/0320-3557-2023-72-91

ВВЕДЕНИЕ

Геотермальные источники представляют собой уникальные местообитания на суше и в глубинах морей и океанов в разных регионах Земли. Их изучение позволяет лучше представить ранний период биосферы Земли, понять механизмы адаптации биоты к экстремальным значениям физико-химических параметров среды, обнаружить стабильно работающие ферменты в этих условиях и другие соединения, перспективные для биотехнологий. Исследования в этом направлении были сконцентрированы в первую очередь на прокариотах. Разнообразие бактерий и архей в таких экотопах активно изучается с 1960-х годов классическими методами, а в последние десятилетия с применением современных молекулярно-генетических подходов [Кочеткова и др., 2022 (Kochetkova et al., 2022)]. Несравнимо меньше работ посвящено исследованию эукариот в горячих источниках, в частности грибов, хотя среди них существуют виды термофильные, термотолерантные, способные расти при низких и высоких значениях pH, экстремальных значениях других факторов среды [Maheshwari et al., 2000; Grigoriev et al., 2011].

К настоящему времени имеются сведения о выделении грибов из горячих источников Йеллоустонского Национального парка (США) [Redman et al., 1999], на севере Тайваня [Chen et al., 2000; Chen et al., 2003], Гималаях (Индия) [Sharma et al., 2013], Западной Анатолии в Турции [Özdemir, Uzel, 2020], в регионах Мехелата и Мезадаран Ирана [Ghajari et al., 2017; Ghajari et al., 2018]. На основе этих и ряда других работ получено представление о составе мицелиальных и дрожжевых грибных организмов в воде и донных грунтах этих экотопов. Разнообразие грибов в них небольшое и чаще всего представлено только термофильными и термотолерантными видами – *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Myceliophthora thermophila*, *Thermomyces lanuginosus*, родов *Penicillium*, *Scytalidium*, *Talaromyces*, *Cladosporium*, порядка Mucorales и некоторых дрожжей. Состав и видовая структура грибной биоты в горячих источниках в разной степени различалась, но методом посева постоянно выявляли термотолеранты и термофилы из отделов Ascomycota, Basidiomycota, и реже – Mucoromycota при постоянном преобладании аскомицетов.

При использовании современных приемов секвенирования тотальной ДНК в образцах воды и донных грунтов горячих источников обнаружены, кроме аскомицетов, базидиомицетов и мукоромицетов, операционно-таксономические единицы (ОТЕ), принадлежащие и к другим отделам грибов [Kambura et al., 2016; Velez et al., 2022]. Так, в донных отложениях и воде горячих источников содового озера Магади (Кения) из 151 ОТЕ, идентифицированных до вида, большинство (80%) отнесены к отделу Ascomycota, 11.5% к Basidiomycota, остальные относились к отделам Glomeromycota, Chytridiomycota и ранним эволюционным линиям грибов [Kambura et al., 2016].

В последнее десятилетие в экологии стали использовать технологии секвенирования нового поколения (next-generation sequencing или NGS), которые позволяют с беспрецедентной глубиной выявлять видовое разнообразие микробных сообществ в наземных и водных средах [Singh et al., 2011; Lee, Tang, 2012]. Работы по характеристике состава грибов в горячих источниках, в которых одновременно

применяли методы посева на питательные среды и технологии NGS при анализе выделенных из природы образцов, единичны. В них изучали микобиоту гидротермальных источников на больших глубинах в океанах [Xu et al., 2018; Velez et al., 2022].

Многолетние успешные работы ведутся по исследованию бактерий и архей в горячих источниках, расположенных на территории Российской Федерации [Бонч-Осмоловская, Мирошниченко, 1995 (Bonch-Osmolovskaya, Miroshnichenko, 1995); Бонч-Осмоловская и др., 1999 (Bonch-Osmolovskaya et al., 1999); Намсараев и др., 2011 (Namsarayev et al., 2011); Кочеткова и др., 2022 (Kochetkova et al., 2022) и др.]. Вместе с тем их микобиота остается неизученной.

Цель работы – определение таксономической структуры и видового состава грибной биоты в донных грунтах Горячинского термального источника с применением культуральных приемов и высокопроизводительного секвенирования ДНК, выделенного из природных образцов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования. Термальный источник расположен на восточном побережье оз. Байкал в с. Горячинске (Прибайкальский район, Бурятия, РФ), в 1 км от озера, на высоте 32 м над уровнем оз. Байкал, в долине между хребтами Литковским на севере и Туркинским на юге. Горячинский источник имеет площадь 0.01 км². Над источником оборудован забор вод в трубы для водолечебницы и беседка. Излишки воды из источника формируют ручей длиной около 100 м, который впадает в пруд, образовавшийся благодаря дамбе. Избыток воды из него затем попадает в оз. Байкал¹.

Вода источника пресная, на выходе имеет температуру 54.5°C, характеризуется щелочным (pH 8–9), сульфатно-натриевым составом с минерализацией 0.5–0.65 г/л и содержанием кремнекислоты 77–89 мг/л. На базе кремнистых термальных вод Горячинского источника функционирует один из старейших курортов Восточной Сибири – Горячинск. Вот уже более 200 лет его минеральные воды эффективно используются при разнообразных заболеваниях¹.

Село Горячинск окружено разнотравным светлохвойным лесом, который представлен почти исключительно сосной обыкновенной, а небольшую долю занимает сосна сибирская. В кустарниковом ярусе преобладают рододендрум даурский, таволга средняя, шиповник игли-

стый и можжевельник обыкновенный, среди трав наибольшим коэффициентом обилия обладают майник двулистный, смилацина трехлистная, реже: бор развесистый, подмаренник северный, седмичник европейский. Общее проективное покрытие травянистых растений составляет 50% [Дашиева, 2014 (Dashieva, 2014)]. Дома сельчан имеют приусадебные участки с садово-огородными и декоративными растениями. В районе побережья, у впадения ручья в оз. Байкал, имеются участки разнотравно-злаковых лугов на аллювиально-гумусовых почвах [Напрасникова, Белозерцева, 2020 (Naprasninkova, Belozertseva, 2020)].

Образцы донных грунтов (слой от 0 до 3–5 см) из источника отбирали в стерильные флаконы (50 мл) три раза из четырех точек: в месте выхода источника ($\Gamma_{0м}$), из ручья в 3 м от источника ($\Gamma_{3м}$), 20 м от источника ($\Gamma_{20м}$), а также из теплого пруда ($\Gamma_{го}$). Отбор образцов был проведен в августе 2020 г. в ходе экспедиций Лимнологического института СО РАН. Анализ проводили из свежих образцов и после хранения в течение нескольких недель при +5°C. Пробы отбирали в нескольких точках – в месте выхода подземных вод источника, в горячем ручье в 3–20 м от выхода вод на поверхность и из пруда в нескольких метрах от впадения в него ручья (100–120 м от источника). Вода из источника вытекает под давлением из трубы, из-за чего образовалось небольшое углубление с илисто-

¹ <https://thermalsprings.ru>

песчаным донным грунтом. На дне ручья, у которого довольно быстрое течение, в грунте преобладала песчаная фракция, а в пруду, напротив, донный грунт был представлен большим слоем тонкой илистой фракции. Температура грунта в пруду была на несколько градусов ниже, чем в месте выхода термальных вод и ручья. Образцы донных грунтов отбирали в стерильные фальконы и содержали воду самого источника.

Методы исследования. Химические свойства грунтов в месте выхода источника (G_{0M}) и в 20 м (G_{20M}) вниз по ручью были определены по следующим методикам в МГУЛАБ. Элементный состав в образцах – методом ИСП-ОЭС на спектрометре 5110 ICP-OES Agilent. Пробы предварительно подвергали разложению в микроволновой печи Вольта МС-10. Высушенные при 105°C навески (0.25 г) помещали в автоклав микроволновой печи, к ним приливали 8 мл концентрированной азотной кислоты и 2 мл перекиси водорода, после чего запускали стандартную программу для разложения органогенных образцов. После окончания программы и охлаждения проб их переносили в мерную колбу на 25 мл и доводили объем до метки дистиллированной водой. Далее пробы поступали на определение массовой доли элементов по методике М-МВИ-80-2008 [Методика..., 2008 (Metodika, 2008)]; pH в образцах грунтов определяли в водной вытяжке по ГОСТ 11623-89 на pH-метре pH-150-МИ производства “Измерительная техника” [State Standard 11623-89, 1990]. Электропроводность измеряли в той же вытяжке на кондуктометре HI 2300, Hanna Instruments. Содержание органического вещества определяли классическим гравиметрическим методом при 525°C по ГОСТ 26213-2021 [State Standard 26213-2021, 2021].

По механическому составу образцы представляли собой смесь илистой и песчаной фракции, причем доля ила возрастала в образцах по мере продвижения от места выхода источника к пруду.

При исследовании микобиоты донных грунтов в месте выхода на поверхность геотермальных вод в с. Горячинск были использованы как культуральные приемы выделения грибов, так и метабаркодирование ДНК, экстрагированной из образцов грунта.

Выделение чистых культур грибов и оценка относительного обилия видов. При определении состава культивируемых видов грибов основным способом выделения был метод посева мелкоземом на питательные среды. По 6 комочков мелкозема грунтов (их общий

вес 0.05–0.15 г на чашку Петри) раскладывали на поверхность сусле-агара (СА) и глюкозо-пептонного агара (ГПА) с добавлением антибиотика цефалоспорины (цефотаксима) в концентрации 125 мг/л. Антибиотик в виде раствора наносили также на комочки грунта. Повторность чашек Петри для каждого образца пятикратная для каждого типа среды (таким образом, выделение в каждом случае проводилось на 10 чашек Петри). Посевы инкубировали при +40°C в термостате в течение 5–7 сут и отсеивали разные морфотипы колоний грибов для получения чистых культур и их идентификации. Провели также инкубации посевов мелкозема при +25°C.

Для выявления грибов, растущих непосредственно в донных грунтах на органических субстратах, в образцы вносили стерильные полоски фильтровальной бумаги, крахмал, казеин и сливочное масло. Образцы грунтов предварительно помещали в стерильные чашки Петри диаметром 35 мм. На поверхность грунта в виде полоски наносили указанные субстраты-приманки и добавляли антибиотик (цефалоспорин) для подавления роста бактерий. В ходе инкубации грунтов с внесенными субстратами при 40°C периодически проводили наблюдение за появлением грибов разных морфотипов на поверхности и под контролем стереоскопического микроскопа выделяли их в чистые культуры препаровальной иглой на питательные среды.

Грибы из грунтов изолировали также с применением накопительного подхода. В колбы с образцами грунтов (G_{3M}) вносили глюкозу и сахарозу и после инкубации при 40°C проводили посев по методике, изложенной выше.

Относительное обилие видов (%) считали как отношение числа колоний определенного вида к числу всех колоний, выросших в исследуемом варианте грунта.

Идентификация и хранение штаммов. Идентификацию изолятов проводили по морфолого-культуральным признакам по рекомендуемым определителям для каждой таксономической группы грибов [Raper et al., 1968; Rifai, 1969; Booth, 1977; Schipper, 1978; Von Arx, 1981; Klich, 2002; Crous et al., 2007; Kirk et al., 2008; de Hoog et al., 2011; Samson, Haubracken, 2011; Seifert et al., 2011 и др.] и молекулярно-генетическим методом (секвенированием региона ITS рибосомальной ДНК).

Выделение ДНК из мицелия проводили путем разрушения клеток с использованием церконовых шариков разного диаметра и лизирующего буфера СТАВ (700 мкл). Лизирование

проводили в течение 60 мин в термостате при 65°C, каждые 20 мин перемешивая на вортексе.

После этого к лизированному мицелию добавляли 500 мкл хлороформа и центрифугировали при 13000 об./мин в течение 10 мин. Супернатант в количестве приблизительно 700 мкл отбирали в новую пробирку, проводили повторную очистку с хлороформом. Повторно очищенный супернатант переносили в чистую пробирку для дальнейшего осаждения ДНК.

Осаждение ДНК проводили с добавлением 400 мкл изопропанола и 70 мкл ацетата калия. После аккуратного перемешивания и осаждения пробирку центрифугировали при 13000 об./мин в течение 10 мин. Далее жидкость сливали, а осадок двукратно промывали холодным 70%-ным этиловым спиртом. После промывки и высушивания в термостате при 37°C осадок ресуспендировали добавлением размороженной деионизированной воды MQ и ставили в морозильник, так как дальнейшая амплификация методом ПЦР проводилась в другой день.

Амплификацию ДНК проводили с использованием коммерческого набора GenPak®PCR Core (Isogene Lab. Ltd., Москва, Россия) и праймеров на участки рРНК ITS1 и ITS4. Для выделения амплифицированных фрагментов ДНК был поставлен электрофорез. Гель для фореа готовили на основе 1% TBE буфера с добавлением 1.8% агарозы. Для флуоресцентного окрашивания цепей ДНК добавляли бромистый этидий. Далее ДНК выделяли из агарозного геля с использованием набора Cleanup Mini (Евроген, Россия).

Результаты секвенирования обрабатывались с использованием программного обеспечения UGENE и базы данных NCBI BLAST.

Современное таксономическое положение видов дано по [<https://www.mycobank.org/>]. Чистые культуры хранили на скошенном агаре или чашках Петри при +7°C.

Высокопроизводительное NGS секвенирование ITS2 рДНК грибов и биоинформационная обработка данных. ДНК из образцов донных грунтов выделяли с применением DNeasy PowerSoil Kit в соответствии с рекомендациями производителя¹.

Для каждой из четырех точек источника ($\Gamma_{0м}$, $\Gamma_{3м}$, $\Gamma_{20м}$, $\Gamma_{го}$) подготавливали смешанные образцы из трех отдельно отобранных образцов, анализы проведены в двукратной повторности в компании Биоспарк. Для амплификации гипервариабельного ITS2 участка гена 18S рРНК использовали праймеры: прямой

NR_5.8SR

TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAG
ACAGATCTCGATGAAGAACGCAGCG, об-
ратный NR ITS4R

TCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGA
CAGGCATCCTCCGCTTA-TTGATATGC
в концентрации 5 мкМ.

Амплификацию ПЦР продукта с целью баркодирования библиотек проводили в объеме 25 мкл в смеси, содержащей 5x KTN-mix (Evrogen) 5 мкл, смесь праймеров 2 мкл, 50x SYBR(Evrogen) 0.5 мкл, в амплификаторе в реальном времени CFX96 Touch (Bio-Rad). Для амплификации использовали индексы, рекомендованные производителем: Nextera Index Kit (Illumina).

Ампликоны после второго этапа очищали с использованием магнитных частиц AM-Pure XP (КАРАBiosystems) в следующих соотношениях: 1:0.6, где вторая цифра – доля AM-Pure для очистки продуктов ПЦР амплификации гипервариабельного ITS2 участка гена 18S рРНК. Данные очищенные ампликоны являются готовыми библиотеками для мультплексного секвенирования на платформе Illumina. Библиотеки смешивали между собой и доводили до общей концентрации 2 нМ. К отобранному 5 мкл смеси добавляли 5 мкл 0.2 М NaOH и инкубировали в течение 5 мин. К денатурированной ДНК добавляли 990 мкл НТИ и 1 мкл 12.5 мМ заранее денатурированного PhyX. Анализ библиотек проводили на секвенаторе нового поколения Illumina MiSeq методом парноконцевого чтения генерацией не менее 10 тыс. парных прочтений на каждый образец с использованием следующих реактивов: MiSeq Reagent Kit v2 nano и MiSeq v2 Reagent Kit (500 Cycles PE).

Данные секвенирования обрабатывали в программе, написанной с использованием алгоритма QIIME 1.9.1, включающего объединение прямых и обратных прочтений, удаление технических последовательностей, фильтрацию последовательностей с низкими показателями достоверности прочтения отдельных нуклеотидов (качество менее Q30), фильтрацию химерных последовательностей, выравнивание прочтений на референсную последовательность, распределение последовательностей по таксономическим единицам с использованием базы данных Silva версии 132 и Unite v8. Использовали алгоритм классификации операционных таксономических единиц (OTE) с открытым референсом (Open-reference OTU), порог классификации 97%.

¹ https://www.bio.vu.nl/~microb/Protocols/Manuals/PowerSoil_DNA.pdf

Относительное обилие таксонов (%) считали как отношение числа ОТЕ данного таксона к общему числу грибных ОТЕ в образце.

Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Office Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Химический состав донных грунтов.

Содержание органического вещества в образцах донных грунтов от места выхода термальных вод к грунтам в ручье на расстоянии от него 20 м было довольно близким – 0.26 и 0.20%, pH изменился существенно со щелочного значения 9.5 к кислому 4.9, электропроводность возросла в 3 раза: с 0.11 до 0.33 мкСм/см (табл. 1). Содержание макроэлементов, за исключением серы, существенно

уменьшалось в образцах донных грунтов, отобранных в месте начала наземного потока термальных вод к точке в 20 м от его истока (табл. 2). Такие большие изменения химических свойств в донных грунтах от истока и по мере движения наземного потока термальных вод, помимо снижения их температуры, должны оказывать влияние на состав и структуру грибных сообществ в грунтах.

Таблица 1. Физико-химические характеристики донных грунтов Горячинского геотермального источника

Table 1. Physico-chemical characteristics of bottom soils of the Goryachinsky geothermal spring

Место отбора Sampling site	Органическое вещество, % Organic matter, %	pH	Электропроводность, мкСм/см Electrical conductivity, $\mu\text{S}/\text{cm}$
В месте выхода термальных вод At the outlet of thermal waters	0.26	9.5	0.11
Ручей (в 20 м от выхода вод) Stream (20 m from the water outlet)	0.20	4.9	0.33

Примечание. Грунты из теплого пруда, а также 3 м от источника не анализировали.

Note. Soils from the warm pond as well as 3 m from the source were not analyzed.

Таблица 2. Содержание макроэлементов в донных грунтах Горячинского геотермального источника

Table 2. Content of macroelements in bottom soils of the Goryachinsky geothermal spring

Место отбора Sampling site	Макроэлементы мг/кг Macroelements mg/kg						
	P	K	S	Ca	Mg	Na	Fe
В месте выхода термальных вод At the outlet of thermal waters	380	3800	187	2700	1530	222	12400
Ручей (в 20 м от выхода вод) Stream (20 m from the water outlet)	155	800	610	1370	520	166	3700

Примечание. Грунты теплого пруда, а также 3 м от источника не анализировали.

Note. Soils from the warm pond as well as 3 m from the source were not analyzed.

Численность культивируемых грибов и структура их сообществ в грунтах источника. Численность грибов в донных грунтах Горячинского термального источника варьировала в диапазоне от 1–3 ед. до 100 КОЕ/г, причем при инкубации посевов при 40°C выявляли единицы КОЕ грибов в 1 г, а десятки КОЕ выявлялись после инкубирования при 25°C. Количество культивируемых грибов было минимальным (единицы КОЕ в 1 г грунта вне зависимости от температуры их выделения) в грунте в месте выхода подземных термальных вод на поверхность, и оно увеличивалось в образцах из ручья и пруда (табл. 3). Это связано, видимо, с повышением кислотности грунтов, то есть смещением значения pH в более благоприятную для грибов кислую область. Больше число КОЕ в грунтах было вы-

явлено при инкубации посевов при 25°C, чем при 40°C, что свидетельствует о существовании в них мезофильных, но терморезистентных грибов.

Культуральными методами из образцов донных грунтов Горячинского термального источника было выделено 70 изолятов, представляющих 34 морфотипа; 15 морфотипов идентифицировано до вида и рода, остальные идентифицировать не удалось (табл. 4). Инкубация посевов при 40°C позволила выделить 11 морфотипов, 5 из которых принадлежали к *Aspergillus fumigatus*, *Pseudothielavia terricola*, *Scedosporium apiospermum*, *Talaromyces flavus* и *Thermomyces dupontii*. Еще 8 новых морфотипов выявлено в посевах при 25°C, 2 из которых идентифицированы, как *Aspergillus niger* и *Rhodotorula* sp.

Таблица 3. Численность грибов в донных грунтах Горячинского термального источника**Table 3.** Numbers of fungi in the bottom soils of the Goryachinsky thermal spring

Температура инкубации посева, °C Incubation temperature, °C	КОЕ/г в.-с. грунта CFU/g of soil b.w.s.			
	В месте выхода термальных вод At the outlet of thermal waters	Ручей (в 3 м от выхода вод на поверхность) Stream (3 m from the water outlet)	Ручей (в 20 м от выхода вод) Stream (20 m from the water outlet)	Теплый пруд Warm pond
40	2±1	4±1	3±1	6±1
25	7±1	29±1	28±1	72±3

При внесении в образцы грунтов субстратов-приманок (целлюлозы, казеина, сливочного масла и крахмала) и инкубации при 40°C получено еще 15 морфотипов, из которых удалось выделить в культуру 13, а 7 из них были идентифицированы до вида: *Aspergillus nishimurae*, *Aspergillus terreus*, *Melanocarpus albomyces*, *Mycothermus thermophilus*, *Naganishia brisbanensis*, *Thermothielavioides terrestris* и *Vishniacozyma carnescentis*.

Инкубация образцов грунта с добавкой глюкозы и сахарозы при 40°C привела к доминированию в нем *Aspergillus fumigatus*, а другие грибы из них изолировать не удалось.

Нуклеотидные последовательности 15 штаммов с видовой идентификацией депонированы в Генбанке с номерами OR577020–OR577028 и OR577147–OR577159.

Число выявленных видов в грунтах горячего источника возросло в 2 раза в случае использования разных культуральных приемов в сравнении с применением только метода посева при 40°C (табл. 4).

Таксономическая принадлежность ряда морфотипов не была установлена, так как колонии этих грибов после появления на среде выделения сразу прекращали рост или не росли после пересева. Поэтому невозможно было получить чистые культуры и биомассу для проведения ПЦР. Спороношений у них не было, и, соответственно, идентифицировать их по рекомендуемым ключам не удалось. Стерильный мицелий был с перегородками, или это были дрожжи. В посевах они формировали колонии разных размеров, текстуры и цвета, светлого, темного, оранжевых и других оттенков.

Идентифицированные грибы принадлежали к двум отделам – Ascomycota, Basidiomycota (табл. 4, 5). Доминировали представители отдела Ascomycota, среди которых преобладали виды класса Eurotiomycetes порядка Eurotiales, затем по относительному обилию следовали грибы класса Sordariomycetes порядков Sordariales и Microascales. Среди базидиомицетов методом посевов выявлены виды класса Micro-

botryomycetes порядка Sporidiobolales, а с применением приманок органических субстратов – класса Tremellomycetes порядков Filobasidiales и Tremellales.

Из аскомицетов в посевах из донных грунтов преобладали *Aspergillus fumigatus*, *Talaromyces flavus*, *Thermomyces dupontii*, *Pseudothielavia terricola*, *Scedosporium apiospermum*; базидиомицеты оказались представлены дрожжами рода *Rhodotorula*. Также значительную часть относительного обилия занимали неидентифицированные морфотипы мицелиальных и дрожжевых грибов (табл. 4). Наибольшее относительное обилие имели *Aspergillus fumigatus* (среднее обилие по трем местообитаниям – 34.5%) и *Talaromyces flavus* (6.0%), а также два неидентифицированных морфотипа дрожжей (имеющие относительное обилие 28.7% и 5.90%), затем следовали виды *Thermomyces dupontii*, *Pseudothielavia terricola* и *Scedosporium apiospermum* с обилием 2.1%, *Rhodotorula* sp. (1.5%) и несколько морфотипов неидентифицированных мицелиальных грибов с обилием 4.5%, 2.7%, 2.2% и 2.1%. Количественно сложно оценить представленность в грибной биоте *Aspergillus nishimurae*, *Aspergillus terreus*, *Melanocarpus albomyces*, *Mycothermus thermophilus*, *Naganishia brisbanensis*, *Thermothielavioides terrestris* и *Vishniacozyma carnescentis*, выявленных только на субстраты-приманки. Вместе с тем представители этих видов росли непосредственно в грунтах при высокой температуре на внесенных органических субстратах, то есть являются активными деструкторами органики в данных экотопах.

Микобиота в донных грунтах в месте источника горячих вод, в 3–20 м от него в ручье и в сотне метров в пруду существенно различалась. При движении в этом направлении возрастало таксономическое разнообразие грибов на уровне как видов, так и таксонов высокого ранга – аскомицетов порядков Sordariales и Microascales и базидиомицетов порядков Sporidiobolales, Filobasidiales и Tremellales (табл. 5).

Таблица 4. Состав и относительное обилие видов грибов, изолированных из донных грунтов Горячинского термального источника**Table 4.** Composition and relative abundance of fungal species isolated from bottom soils of the Goryachinsky thermal spring

Вид / морфотип Species / morphotype	Относительное обилие, % Relative abundance, %		
	Выход тер- мальных вод Outlet of thermal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	60.7*	38.12**	2.78+
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	.	0.03	.
<i>Aspergillus nishimurae</i> Takada, Y. Horie & Abliz	.	.	+
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	.	.	+
<i>Melanocarpus albomyces</i> (Cooney & R. Emers.) Arx	.	.	+
<i>Mycothermus thermophilus</i> (Cooney & R. Emers.) X. Wei Wang, Houbraken & D.O. Natvig	.	.	+
<i>Naganishia brisbanensis</i> Y.P. Tan, Marney & R.G. Shivas	.	.	+
<i>Penicillium</i> sp.	.	.	+
<i>Pseudothielavia terricola</i> (J.C. Gilman & E.V. Abbott) X. Wei Wang & Houbraken	.	.	8.33
<i>Rhodotorula</i> sp.	.	.	+
<i>Scedosporium apiospermum</i> (Sacc.) Sacc. ex Castell. & Chalm.	.	5	.
<i>Talaromyces flavus</i> (Klöcker) Stolk & Samson	25	.	.
<i>Thermomyces dupontii</i> (Griffon & Maublanc) Houbraken & Samson	.	.	8.33
<i>Thermothielavioides terrestris</i> (Apinis) X. Wei Wang & Houbraken	.	.	+
<i>Vishniacozyma carnescens</i> (Verona & Luchetti) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	.	.	+
Морфотип дрожжей 1 Yeast morphotype 1	.	34.65	41.68
Морфотип дрожжей 2 Yeast morphotype 2	.	6.67	6.95
Морфотип дрожжей 3 Yeast morphotype 3	.	.	+
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 1	7.15	0.71	.
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 1	7.15	0.05	3,47
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 2	.	5.00	.
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 3	.	0.05	.
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 4	.	0.73	.
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 5	.	.	8.33
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 6	.	5.00	9.72+
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 7	.	0.78	2.09
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 8	.	0.03	.
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 9	.	.	8.33+
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 10	.	.	+
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 11	.	.	+
<i>Mycelia sterilia</i> темноокрашенная, морфотип 12 <i>Mycelia sterilia</i> dark-colored, morphotype 12	.	.	+
<i>Mycelia sterilia</i> темноокрашенная, морфотип 13 <i>Mycelia sterilia</i> dark-colored, morphotype 13	.	.	+
<i>Mycelia sterilia</i> морфотип 14	.	.	+

Вид / морфотип Species / morphotype	Относительное обилие, % Relative abundance, %		
	Выход тер- мальных вод Outlet of thermal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
Mycelia sterilia morphotype 14			
Mycelia sterilia морфотип 15	.	.	+
Mycelia sterilia morphotype 15			
Mycelia sterilia морфотип 16	.	.	+
Mycelia sterilia morphotype 16			
Число изолятов, идентифицированных до вида Number of isolates identified to species	2	4	10
Число видов и неидентифицированных морфотипов*** Number of species and unidentified morphotypes***	4	14	23

Примечание. “*” – коэффициент вариации данных 20–30%; “***” – гриб выделен из накопительной культуры; “+” – выделен на субстрат-приманку, “.” – не был выделен из данного образца, “****” – 1–14 – колонии этих морфотипов прекращали рост после пересева, 15 и 16 – колонии этих морфотипов не пересеивались со среды выделения.

Note. “*” – coefficient of variation of data 20–30%; “***” – fungus was isolated from accumulation culture; “+” – isolated on bait substrate, “.” – has not been isolated from this sample, “****” – 1–14 – colonies of these morphotypes stopped growing after isolation, 15 and 16 – colonies of these morphotypes were not isolated.

Таблица 5. Таксономическая структура грибных сообществ на уровне порядков в донных грунтах Горячинского термального источника по данным методов посева и приманок

Table 5. Taxonomic structure of fungal communities at the order level in the bottom soils of the Goryachinsky thermal spring according to seeding and baiting methods

Отдел Phylum	Класс Class	Место отбора Sampling site Порядок Order	Относительное обилие, % Relative abundance, %		
			Выход термальных вод Outlet of thermal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
Ascomycota	Eurotiomycetes Sordariomycetes	Eurotiales	85.7	38.15	11.11+
		Microascales	.	5	+
		Sordariales	.	.	8.33+
Basidiomycota	Microbotryomycetes Tremellomycetes	Sporidiobolales	.	3.28	+
		Filobasidiales	.	.	+
		Tremellales	.	.	+
Неидентифицированные The unidentified			14.3	53.57	80.56

Примечание. “+” – представители этого таксона выделены методом приманок, “.” – этот таксон не был выделен из данного места отбора.

Note. “+” – representatives of this taxon were isolated by the baiting method, “.” – this taxon has not been isolated from this sampling site.

При этом в донных грунтах ручья и пруда снизилось обилие аскомицетов класса Eurotiomycetes порядка Eurotiales, доминирующих его представителей *Aspergillus fumigatus* и *Talaromyces flavus* (табл. 4). Причем последний был обнаружен лишь в грунте в месте выхода геотермальных вод. Только из донных грунтов пруда изолировали *Aspergillus nishimurae*, *Aspergillus terreus*, *Mycothermus thermophilus*, *Melanocarpus albomyces*, *Pseudothielavia terricola*, *Thermomyces dupontii*, *Thermothielavioides terrestris*, *Naganishia brisbanensis*, *Rhodotorula* sp., *Vishniacozyma carnescentis*, а из ручья *Asper-*

gillus niger, *Scedosporium apiospermum* (табл. 4). Все выявленные виды являются термотолерантными или термофильными грибами. Заметное увеличение разнообразия неидентифицированных грибов также наблюдали при сравнении грунтов источника, ручья и пруда.

Разнообразие и структура грибных сообществ в донных грунтах по данным высокопроизводительного секвенирования ITS рДНК. Методом ДНК-баркодинга в образцах донных грунтов в месте выхода горячих вод ($\Gamma_{0м}$), ручье ($\Gamma_{3м}$ и $\Gamma_{20м}$) и в пруду ($\Gamma_{го}$) выявлено 17195 грибных операционных таксономических

единиц (ОТЕ). Они принадлежали к 47 порядкам, 17 классам 7 отделов – Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota, Mortierellomycota, Zoopagomycota, Chytridiomycota, Rozellomycota (табл. 7). Неидентифицированных до отдела ОТЕ было 4.8% их общего числа, до класса – 4.4%, до порядка – 3.3%, до семейства – 12.4%. Число идентифицированных до вида ОТЕ было 11074, что составило 64.4%.

Общее число ОТЕ, идентифицированных до вида и рода в донных грунтах, составляло 172, до вида 149. Из грунтов в месте выхода источника 94, ручья 48 и пруда 29 видов. Это в большой степени было обусловлено различием в числе ОТЕ в образцах этих грунтов – 9399, 5600, 2193 соответственно. Большая доля ОТЕ не идентифицированных до вида грибов была отмечена в грунтах теплого пруда.

Доминирующими таксонами в микобиоте горячего источника были представители отдела Ascomycota (доля их ОТЕ в образцах грунтов 62–74%), затем следовали ОТЕ отдела Basidiomycota (20–25.5%), Chytridiomycota (до 9%) и группа неидентифицированных до отдела ОТЕ (доля их ОТЕ варьировала от 1.2 до 12.1%). Грибы отделов Mucoromycota, Mortierellomycota, Zoopagomycota, Rozellomycota имели относительное обилие ОТЕ, не превышающее 1.5% от всех последовательностей.

ОТЕ грибов отдела Ascomycota представлены преимущественно классами Dothideomycetes (5–34% от всех ОТЕ, в среднем – 22%), Leotiomycetes (5.5–37%, в среднем 16%), Saccharomycetes (1–25%, в среднем 12%), Sordariomycetes (1–17%, в среднем 7.2%) и Eurotiomycetes (1.5–10.5%, в среднем 6.7%). Наибольшее относительное обилие ОТЕ было у представителей порядков Pleosporales (класс Dothideomycetes), Helotiales (класс Leotiomycetes) и Saccharomycetales (класс Saccharomycetes).

Среди базидиомицетов высокое относительное обилие в грибных сообществах грунтов было у представителей классов Agaricomycetes (11.6% ОТЕ), Malasseziomycetes (порядка Malasseziales – 1.15%), Tremellomycetes (порядка Trichosporonales – 6.33%), Microbotryomycetes (порядка Leucosporidiales – 1.93%). Грибы отдела Mucoromycota представлены преимущественно порядком Umbelopsidales (в среднем 0.68%), Mortierellomycota – порядком Mortierellales (0.32%), среди Chytridiomycota преобладали ОТЕ порядка Rhizophydiales (3.6%).

В структуре грибных сообществ грунтов источника преобладали как по представленности, так и числу видов аскомицеты. Высокое относительное обилие (доля от общего числа

ОТЕ) было у видов *Halenospora varia* – 11% и *Botrytis cinerea* – 2.4% порядка Helotiales класса Leotiomycetes; *Candida* sp. – 6.4% и *Saccharomyces cerevisiae* – 3.4% порядка Saccharomycetales класса Saccharomycetes; *Coniochaeta lignicola* – 5.2% порядка Coniochaetales класса Sordariomycetes; *Cladosporium* sp. – 3.8% порядка Cladosporiales и *Paraconiothyrium sporulosum* – 3.1%, *Neosetophoma cerealis* – 2.2%, *Pyrenochaetopsis leptospora* – 2.0%, *Neosetophoma buxi* – 1.8% порядка Pleosporales класса Dothideomycetes; *Aspergillus fumigatus* – 2.0% порядка Eurotiales класса Eurotiomycetes; *Chromelosporium fulvum* – 1.8% порядка Pezizales класса Pezizomycetes. Большое относительное обилие в сообществах было и у неидентифицированных до вида ОТЕ семейства Didymellaceae (1.4%), порядка Pleosporales (2.2%) класса Dothideomycetes, порядка Chaetothyriales класса Eurotiomycetes (1.8%).

Из базидиомицетов доминировали в грунтах по относительному обилию ОТЕ *Apiotrichum gracile* – 5.6% из порядка Trichosporonales класса Tremellomycetes, *Brunneoporus minutus* – 4.3% порядка Polyporales класса Agaricomycetes и *Leucosporidium fragarium* – 1.9% порядка Leucosporidiales класса Microbotryomycetes, виды рода *Malassezia* порядка Malasseziales.

Представленность в сообществах подавляющего большинства видов была менее 1%. В микобиоте грунтов по мере удаленности от выхода термальных вод на поверхность к пруду снижалось относительное обилие представителей родов *Aspergillus* (*A. flavipes*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*), *Candida* (*C. argentea*, *C. pseudolambica*, *C. saitoana*, *Candida* sp.), *Malassezia* (*M. arunalokei*, *M. globosa*, Malasseziales sp.), *Neosetophoma* (*N. buxi*, *N. cerealis*), *Paraphoma* (*P. fimeti*, *P. pye*, *Paraphoma* sp.), *Penicillium* (*P. bialowiezense*, *P. brevicompactum*, *P. herquei*, *Penicillium* sp.), порядка Pleosporales класса Dothideomycetes, *Knufia petricola*, *Botrytis cinerea*. Резко уменьшилась представленность грибов класса Archaeorhizomycetes (*Archaeorhizomyces borealis*, *Archaeorhizomyces* sp.). Одновременно отмечено увеличение относительного обилия *Arthrotrichum conoides*, *Cladosporium* (*C. sphaerospermum*, *Cladosporium* sp.), *Chromelosporium* (*C. fulvum*, *C. macrospermum*), *Cladophialophora* (*C. bantiana*, *C. psammophila*, *Cladophialophora* sp.) и ряда других. На порядок возросла доля ОТЕ не идентифицированных до вида грибов. Представленность в биоте других видов значимо не изменялась.

Таблица 6. Таксономическая структура грибных сообществ в донных грунтах Горячинского термального источника по данным высокопроизводительного секвенирования ITS рДНК**Table 6.** Taxonomic structure of fungal communities in the bottom soils of the Goryachinsky thermal spring according to high-throughput ITS rDNA sequencing data

Отдел Phylum	Класс Class	Место отбора Sampling site Порядок Order	Относительное обилие, % Relative abundance, %		
			Выход тер- мальных вод Outlet of thermal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
Ascomycota	Archaeorhizomycetes	Archaeorhizomycetales	1.34	0.11	.
		Dothideomycetes	.	0.04	.
	Dothideomycetes	Capnodiales	0.51	0.05	0.41
		Cladosporiales	4.30	0.91	8.80
		Dothideales	.	0.04	0.14
		Mytilinidiales	.	0.07	.
		Pleosporales	28.58	3.88	1.82
		Unindefined	0.87	0.04	1.96
		Venturiales	0.12	0.04	.
	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	3.18	1.63	1.50
		Eurotiales	7.34	0.46	.
		Phaeomoniellales	.	0.07	.
	Lecanoromycetes	Lecanorales	.	0.16	.
	Leotiomycetes	Helotiales	4.86	36.82	5.61
		Thelebolales	0.15	.	.
		Undefined	0.45	.	.
	Orbiliomycetes	Orbiliales	0.06	.	2.78
	Pezizomycetes	Pezizales	2.42	0.20	12.59
	Saccharomycetes	Saccharomycetales	15.23	1.13	25.08
	Sordariomycetes	Chaetosphaeriales	0.05	.	.
		Coniochaetales	.	15.98	.
		Glomerellales	0.91	0.16	0.82
		Hypocreales	0.77	1.18	.
		Myrmecridiales	0.24	.	.
		Undefined	0.21	.	.
		Xylariales	0.59	.	.
	Undefined	Unindefined	1.77	0.32	0.55
		Agaricomycetes	1.93	0.68	4.92
Basidiomycota	Agaricomycetes	Amylocorticiales	0.14	.	.
		Atheliales	0.95	0.02	.
		Auriculariales	.	.	1.69
		Boletales	2.69	0.04	.
		Cantharellales	0.05	0.02	.
		Corticiales	0.19	.	.
		Gastrales	.	.	0.09
		Hymenochaetales	0.47	.	.
		Polyporales	9.98	0.64	1.14
		Russulales	0.54	0.04	0.23
		Thelephorales	0.71	.	0.09
		Unindefined	0.74	.	.
	Malasseziomycetes	Malasseziales	1.99	0.07	0.27
	Microbotryomycetes	Kriegeriales	.	.	0.27
		Leucosporidiales	.	0.14	14.73
		Sporidiobolales	0.24	.	0.36
		Unindefined	.	0.25	0.32
	Tremellomycetes	Cystofilobasidiales	0.03	0.07	.
		Filobasidiales	.	0.02	.
		Tremellales	0.28	0.14	.
		Trichosporonales	0.79	17.59	1.32
Mucoromycota	Unindefined	Unindefined	.	0.14	.
	Umbelopsidomycetes	Umbelopsidales	1.21	0.05	.

Отдел Phylum	Класс Class	Место отбора Sampling site	Относительное обилие, % Relative abundance, %		
			Выход тер- мальных вод Outlet of thermal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	0.24	.	0.32
Zoopagomycota	Zoopagomycetes	Zoopagales	0.03	.	0.09
Chytridiomycota	Chytridiomycetes	Chytridiales	.	0.30	.
	Rhizophydiomycetes	Rhizophydiales	1.67	8.25	.
	Undefined	Undefined	.	0.30	.
Rozellomycota	Undefined	Undefined	.	0.38	0.46
Undefined	Undefined	Undefined	1.20	7.59	11.72
Число грибных ОТЕ / Number of fungal OTUs			9399	5600	2193
Число ОТЕ идентифицированных до вида и рода Number of OTUs identified to species and genus			118	60	35
Общее число ОТЕ идентифицированных до вида и рода Total number of OTUs identified to species and genus				172	
Общее число ОТЕ идентифицированных до рода Total number of OTUs identified to genus				132	
Число ОТЕ идентифицированных до вида Number of OTUs identified to species			94	48	29
Общее число ОТЕ идентифицированных до вида Total number of OTUs identified to species				149	

Примечание. “.” – этот таксон не был представлен в данном месте отбора.

Note. “.” – this taxon has not been represented at this sampling site.

Среди грибов, обнаруженных высокопроизводительным секвенированием в грунтах источника, есть не только, как в случае культуральных методов, термотолерантные и тер-

мофильные виды родов *Aspergillus*, *Talaromyces*, *Candida*, *Scopulariopsis*, но и представители других эколого-трофических и физиологических групп грибов.

Таблица 7. Видовой состав и структура грибных сообществ в донных грунтах Горячинского термального источника по данным высокопроизводительного секвенирования ITS рДНК

Table 7. Species composition and structure of fungal communities in the bottom soils of the Goryachinsky thermal spring according to high-throughput ITS rDNA sequencing data

Вид / таксон Species / taxon	Относительное обилие ОТЕ, % Relative abundance, %		
	Выход тер- мальных вод Outlet of ther- mal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
<i>Amanita porphyria</i> Alb. & Schwein.	0.39	.	3.65
<i>Antrodia gossypium</i> (Speg.) Ryvarden	0.74	.	.
<i>Apiotrichum</i> (<i>A. gracile</i> (Weigmann & A. Wolff) Yurkov & Boekhout, <i>A. laibachii</i> (Windisch) Yurkov & Boekhout, <i>A. vadsense</i> (Middelhoven, Scorzetti & Fell) Yurkov & Boekhout, <i>A. xylopi</i> S.O. Suh, C.F. Lee, Gujjari & J.J. Zhou ex Kachalkin, Yurkov & Boekhout, <i>Apiotrichum</i> sp.)	0.79	17.59	1.32
<i>Archaeorhizomyces</i> (<i>A. borealis</i> Menkis, T.Y. James & Rosling, <i>Archaeorhizomyces</i> sp.)	1.34	0.11	.
<i>Arthrobotrys conoides</i> Drechsler	.	.	2.46
Ascomycota sp.	1.77	0.32	0.55
<i>Aspergillus</i> (<i>A. flavipes</i> (Bainier & Sartory) Thom & Church, <i>A. flavus</i> Link, <i>A. fumigatus</i> Fresen., <i>A. niger</i> Tiegh.)	3.78	0.46	.
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	3.78	1.00	.
<i>Brunneoporus minutus</i> (Spirin) Audet	7.86	.	.
<i>Candida</i> (<i>C. argentea</i> S.L. Holland, S.V. Avery & P.S. Dyer, <i>C. pseudolambica</i> M.T. Sm. & Poot, <i>C. saitoana</i> Nakase & M. Suzuki, <i>Candida</i> sp.)	11.75	0.25	3.24
Chaetothyriales sp.	2.12	1.21	.

Вид / таксон Species / taxon	Относительное обилие ОТЕ, % Relative abundance, %		
	Выход тер- мальных вод Outlet of ther- mal waters	Ручей Stream	Теплый пруд Warm pond
<i>Chromelosporium</i> (<i>C. fulvum</i> (Fr.) McGinty, Hennebert & Korf, <i>C. macrosporum</i> Hennebert)	2.16	.	5.11
<i>Cladophialophora</i> (<i>C. bantiana</i> (Sacc.) de Hoog, Kwon-Chung & McGinnis, <i>C. psammophila</i> Badali, Prefaneta-Boldú, Guarro & de Hoog, <i>Cladophialophora</i> sp.)	0.23	0.09	1.50
<i>Cladosporium</i> (<i>C. sphaerospermum</i> Penz., <i>Cladosporium</i> sp.)	4.30	0.96	8.80
<i>Coniochaeta</i> (<i>C. lignicola</i> (Nannf.) Z.U. Khan, <i>C. olivacea</i> (Fr.) P. Karst.)	0.27	16.02	.
<i>Cyberlindnera jadinii</i> (Sartory, R. Sartory, Weill & J. Mey.) Minter	0.18	.	1.19
Dictyosporiaceae sp.	1.16	.	.
Didymellaceae sp.	2.48	0.16	.
Dothideomycetes sp.	0.87	0.04	1.96
<i>Exidia glandulosa</i> (Bull.) Fr.	.	.	1.69
<i>Ganoderma</i> (<i>G. applanatum</i> (Pers.) Pat., <i>G. curtisii</i> (Berk.) Murrill, <i>G. lucidum</i> (Curtis) P. Karst.)	0.45	0.27	0.96
<i>Gibellulopsis</i> (<i>G. nigrescens</i> (Pethybr.) Zare, W. Gams & Summerb., <i>G. simonii</i> Giraldo López)	0.91	.	0.82
<i>Halenospora varia</i> (Anastasiou) E.B.G. Jones	.	34.25	.
Helotiales sp., Helotiaceae sp.	0.86	0.18	3.97
<i>Heterophoma</i> sp.	0.80	.	.
<i>Hyaloscypha</i> sp.	.	.	0.87
Hypocreales sp.	0.04	1.18	.
<i>Knufia petricola</i> (Wollenz. & de Hoog) Gorbushina & Gueidan	0.68	.	.
<i>Kodamaea ohmeri</i> (Etchells & T.A. Bell) Y. Yamada, Tom. Suzuki, M. Matsuda & Mikata	.	.	3.97
<i>Leucosporidium</i> (<i>L. fragarium</i> (J.A. Barnett & Buhagiar) M. Groenew. & Q.M. Wang, <i>L. intermedium</i> (Nakase & M. Suzuki) M. Groenew. & Q.M. Wang), Leucosporidiales sp	.	0.15	14.73
<i>Malassezia</i> (<i>M. arunalokei</i> Honnavar P, SM Rudramurthy, GS Prasad, M. globosa Midgley, E. Guého & J. Guillot, <i>Malasseziales</i> sp.)	1.99	0.07	0.54
<i>Neopyrenochaeta acicola</i> (Moug. & Lév.) Valenz.-Lopez	0.88	.	.
<i>Neosetophoma</i> (<i>N. buxi</i> Spetik, Eichmeier, Pecenka, Gramaje & Berraf-Tebbal, <i>N. cerealis</i> (E. Müll.) Crous	6.94	0.66	.
<i>Paraconiothyrium sporulosum</i> (W. Gams & Domsch) Verkley	5.62	0.11	.
<i>Paraphoma</i> (<i>P. fimeti</i> (Brunaud) Gruyter, Aveskamp & Verkley, <i>P. pye</i> A. Moslemi & P.W.J. Taylor, <i>Paraphoma</i> sp.)	1.36	0.32	.
<i>Penicillium</i> (<i>P. bialowiezense</i> K.W. Zaleski, <i>P. brevicompactum</i> Dierckx, <i>P. herquei</i> Bainier & Sartory, <i>Penicillium</i> sp.)	2.93	.	.
<i>Phaeosphaeria</i> sp., Phaeosphaeriaceae sp.	0.96	.	.
Pleosporales sp.	3.81	0.32	.
<i>Pseudoplectania lignicola</i> Glejduša, Kučera, Lizoň & Kunca	0.26	.	7.48
<i>Pyrenochaetopsis leptospora</i> (Sacc. & Briard) Gruyter, Aveskamp & Verkley	2.77	1.32	0.73
Rhizophydiales sp.	1.67	8.25	.
Rozellomycota sp.	.	0.38	0.46
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Desm.) Meyen, Saccharomycetales sp.	2.25	0.43	16.69
<i>Suillus</i> (<i>S. granulatus</i> (L.) Roussel, <i>S. variegatus</i> (Sw.) Kuntze)	1.03	.	.
<i>Tetracladium</i> sp.	.	0.82	0.78
<i>Umbelopsis</i> (<i>U. isabellina</i> (Oudem.) W. Gams, <i>U. ramanniana</i> (A. Möller) W. Gams, <i>Umbelopsis</i> sp.)	1.22	0.05	.
Неидентифицированные грибы / Unidentified fungi	1.20	7.59	11.72

Примечание (а). “.” – этот таксон не был представлен в данном месте отбора.

Note (a). “.” – this taxon has not been represented at this sampling site.

Примечание (b). Виды/таксоны с относительным обилием ОТЕ 0.033–0.66% от всех ОТЕ в грунтах данного варианта:

Note (b). Species/taxa with relative abundance of OTUs of 0.033–0.66% of all OTUs in the soils of this sampling site:

Agaricomycetes sp., *Barrmaelia rappazii* Jaklitsch, Friebe & Voglmayr, *Boeremia exigua* (Desm.) Aveskamp, Gruyter & Verkley, *Bovista* (*B. aestivalis* (Bonord.) Demoulin, *B. tomentosa* (Vittad.) Quél.), *Coprinopsis* (*C. friesii* (Quél.) P. Karst., *C. urticicola* (Berk. & Broome) Redhead, Vilgalys & Moncalvo, *Coprinopsis* sp.), *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger, *Fusicolla aquaeductum* (Radlk. & Rabenh.) Gräfenhan, Seifert & Schroers, *Hyphodontia pallidula* (Bres.) J. Erikss., *Hypholoma capnoides* (Fr.) P. Kumm., *Imleria badia* (Fr.) Vizzini, *Lacrymaria* sp., *Oidio-dendron chlamydosporicum* Morrall, *Paraphaeosphaeria* (*P. angularis* Verkley & Aa, *P. michotii* (Westend.) O.E. Erikss., *Paraphaeosphaeria* sp.), *Peniophora* (*P. cinerea* (Pers.) Cooke, *P. crystallina* Höhn. & Litsch., *P. limitata* (Chaillat ex Fr.) Cooke, *P. quercina* (Pers.) Cooke), *Piloderma sphaerosporum* Jülich, *Pleurophoma ossicola* Crous, Krawczynski & H.-G. Wagner, Polyporales sp., *Tapinella panuoides* (Fr.) E.-J. Gilbert, *Thelephora terrestris* Ehrh., Thelephoraceae sp., Tricladaceae sp., *Tubaria* sp., *Vermiconidia antarctica* Egidi & Selbmann, *Zygophlyctis* (*Z. melo-sirae* (Canter) K. Seto, *Z. planktonica* Doweld);

Примечание (с). ОТЕ 0.10–0.30% от всех ОТЕ в грунтах данного варианта:

Note (c). OTUs of 0.10–0.30% of all OTUs in the soils of this sampling site:

Baeospora myosura (Fr.) Singer, Basidiomycota sp., Boletaceae sp., Capnodiales sp., Chytridiomycota sp., *Coniothyrium crepinianum* Sacc. & Roum., *Corioloopsis trogii* (Berk.) Domanski, *Dioszegia crocea* (Buhagiar) M. Takash., T. Deák & Nakase, Hyaloscyphaceae sp., *Glaciozyma antarctica* (Fell, Statzell, I.L. Hunter & Phaff) M. Groenew. & Q.M. Wang, *Epicoccum* (*E. draconis* (Berk. ex Cooke) Qian Chen & L. Cai, *E. pimprinum* (P.N. Mathur, S.K. Menon & Thirum.) Aveskamp, Gruyter & Verkley), *Exophiala* (*E. xenobiotica* de Hoog, J.S. Zeng, Harrak & Deanna A. Sutton *Exophiala* sp.), Glomerellales sp., *Gymnopilus* sp., *Hormonema* sp., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Inocybe auricomella* Kühner, Microbotryomycetes sp., *Mortierella macrocystis* W. Gams, *Myrmecridium schulzeri* (Sacc.) Arzanlou, W. Gams & Crous, *Nectriopsis violacea* (J.C. Schmidt ex Fr.) Maire, *Ophiobolus malleolus* S.K. Huang, Bulgakov & K.D. Hyde, *Orbilia vermiformis* Baral, Z.F. Yu & K.Q. Zhang, *Paraleptosphaeria macrospora* (Thüm.) Gruyter, Aveskamp & Verkley, *Paxillus involutus* (Batsch) Fr., *Plectania melastoma* (Sowerby) Fuckel, *Podila humilis* (Linnem. ex W. Gams) Vandepol & Bonito, *Preussia persica* Asgari & Zare, Pseudeurotiaceae sp., *Sagenomella ocotl* (Bills & Heredia) Samson, Houbraken & Frisvad, *Sarcoporia polyspora* P. Karst., Sclerotiniaceae sp., *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Bainier, *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J. Erikss., Sordariomycetes sp., Sporidiobolaceae sp., Sporidiobolales sp., Strophariaceae sp., *Talaromyces* (*T. dextri* Takada & Udagawa, *T. helicus* (Raper & Fennell) C.R. Benj.), *Trematosphaeria grisea* (J.E. Mackinnon, Ferrada & Montemart.) S.A. Ahmed, Sande, Fahal & de Hoog, *Tylospora fibrillosa* (Burt) Donk, *Venturia* sp., *Vishniacozyma* (*V. dimennae* (Fell & Phaff) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout, *V. foliicola* Q.M. Wang & F.Y. Bai ex Yurkov), *Xenasmataella vaga* (Fr.) Stalpers;

Примечание (d). Виды с ОТЕ менее 0.10% не приведены.

Note (d). Species with OTUs less than 0.10% are not listed.

ОБСУЖДЕНИЕ

К настоящему времени имеется информация о составе грибов в ряде горячих источников, полученная на основе метода посевов на питательные среды. Есть сведения о выделении термофильных и термотолерантных грибов из горячих источников Йеллоустонского Национального парка (США) [Redman et al., 1999]. В них были обнаружены *Penicillium piceum* (*Talaromyces piceae*) *Penicillium* spp., *Absidia cylindrospora*, *Acremonium alabamense*, *Acremonium ochraceum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium erraticum* (*Chaetomium virescens* var. *thielavioides*), *Cunninghamella elegans*, *Pseudeurotium* sp., *Dactylaria constricta* var. *Gallopava* (*Verruconis gallopava*), *Torula* sp. Далее 7 термофильных и термотолерантных видов – *Aspergillus fumigatus*, *Thermomyces lanuginosus*, *Humicola insolens* (пересмотрен на *Mycothermus thermophilus*), *Penicillium dupontii* (пересмотрен на *Thermomyces dupontii*), *Rhizoctonia* sp. было выделено из 8 горячих серных источников (воды и донных отложений) на Тайване [Chen et al., 2000]. В последующей работе Чен с соавторами [Chen et al., 2003] из донных почв горячих источников, расположенных в Янгминшанском Национальном Парке (Северный

Тайвань) изолировали намного больше штаммов, которые принадлежали к родам *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Sporotrichum*, *Scytalidium*, *Papulospora* и *Mycelia sterilia*. В водах горячего источника в Маникаране (Гималаи) обнаружен термофильный вид *Myceliophthora thermophila* [Sharma et al., 2013]. Из воды термальных источников Мехелата (Иран) изолировали дрожжевые и мицелиальные грибы – *Rhodotorula* spp. (относительное обилие 35.4%), *Penicillium* spp. – 28.6%, *Candida* spp. – 22.1%, *Aspergillus niger* – 8.5%, *Aspergillus flavus* – 2.2%, *Aspergillus fumigatus* – 0.8%, *Cladosporium* spp. – 0.8%, *Alternaria* spp. – 0.6%), *Fusarium* spp. (0.3%), *Geotrichum* spp. (0.3%), *Stachybotrys chartarum* (0.3%) [Ghajari et al., 2018]. В воде горячих источников провинции Мезадаран (Иран) наиболее часто обнаруживали *Aspergillus niger*, виды родов *Penicillium* и *Cladosporium* [Ghajari et al., 2017]. Грибное сообщество культивируемых видов горячих источников Западной Анатолии (Турция) было представлено видами родов *Aspergillus* (*A. terreus*, *Aspergillus* spp.), *Penicillium*, *Scytalidium*, *Lichtheimia* (*L. corymbifera*, *L. ramosa*), *Acrophialophora* and *Myceliophthora* [Özdemir, Uzel, 2020]. Преобладали среди изолятов термотолерантные виды рода *Aspergillus*.

Культуральными методами в донных грунтах Горячинского термального источника выявлено 15 термофильных и термотолерантных видов – *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. nishimurae*, *A. terreus*, *Melanocarpus albomyces*, *Mycothermus thermophilus*, *Naganishia brisbanensis*, *Penicillium* sp., *Pseudothielavia terricola*, *Rhodotorula* sp., *Scedosporium apiospermum*, *Talaromyces flavus*, *Thermomyces dupontii*, *Thermothielavioides terrestris* и *Vishniacozyma carnes-cens*. Кроме того, в них обнаружена группа из 19 морфотипов труднокультивируемых грибов, которые не удалось идентифицировать. Сопоставление микобиоты Горячинского источника с данными по составу и структуре грибных сообществ в горячих источниках, полученными методом выделения на питательные среды, показывает их большое сходство по своему “ядру”, доминирующим таксонам (табл. 4). Это группа термофильных и термотолерантных видов, именно они наиболее часто и в значительном количестве были выявлены в исследованиях других горячих источников [Redman et al., 1999; Chen et al., 2000; Chen et al., 2003; Sharma et al., 2013; Ghajari et al., 2016; Özdemir, Uzel, 2020]. Дрожжи *Rhodotorula* sp., выделенные нами, также изолировали из термальных источников другие авторы [Kambura et al., 2016; Salano et al., 2017; Ghajari et al., 2018].

Большее разнообразие грибов обнаруживают при использовании современных молекулярно-генетических приемов на основе секвенирования тотальной ДНК, экстрагированной из образцов отложений и воды горячих источников. Так, в термальных источниках озера Магади (Кения) выявлено 151 ОТЕ, представляющих виды отделов Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota, Chytridiomycota и неидентифицированного отдела [Kambura et al., 2016]. Преобладали в источниках нуклеотидные последовательности видов *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. oryzae*, *A. aculeatus*, *A. fumigatus*, *Ramularia eucalypti*, *Stagonospora* sp., *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides* и родов *Malassezia*, *Neurospora*, *Penicillium*, *Phaeosphaeria*, *Radulidium*; среди базидиомицетов отмечены рода *Rhodotorula* и *Termitomyces*, а также последовательности, отнесенные к семейству *Trichocomaceae* и порядку *Pleosporales*.

Методом ДНК-баркодинга в донных грунтах Горячинского источника выявлено на порядок большее разнообразие грибов, 149 видов 132 родов, чем культуральными приемами (15 видов и 11 родов) (табл. 6, 7). Число идентифицированных ОТЕ до вида составило 64.4%.

Исследование микобиоты грунтов гидротермальных источников как расположенных на больших морских глубинах [Xu et al., 2018], так и Горячинского термального источника свидетельствует, что применение обоих методов – культуральных и высокопроизводительного секвенирования ДНК дает более детальную информацию о разнообразии грибных организмов в этих местообитаниях. При их совместном использовании было выявлено 160 видов в грунтах Горячинского источника. При этом только 4 вида были установлены одновременно обоими методами. Помимо аскомицетов и базидиомицетов, которые обнаружены путем выделения грибов на питательные среды, ДНК-баркодингом показано наличие в грунтах представителей отделов Mucoromycota, Mortierellomycota, Zoopagomycota, Chytridiomycota, Rozellomycota.

Далеко не все грибы, выявленные высокопроизводительным секвенированием тотальной ДНК, являются обитателями донных грунтов. Горячинский термальный источник открыт для поступления в него различных видов грибных организмов из почвы, растений и других компонентов окружающей среды. Немногие из них способны по своим физиолого-биохимическим свойствам функционировать или сохранять жизнеспособность в этом экстремальном по температуре местообитании. Обитателями источниками могут быть термотолерантные и термофильные виды, растущие при температурах не ниже 40°C. Наличие многих из них в источнике показано выделением их на питательные среды при инкубации посевов при высокой температуре (табл. 4). Методом ДНК-баркодинга также выявлены виды этой физиологической группы – *Aspergillus* (*A. flavipes*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*), *Talaromyces* (*T. derxii*, *T. helicus*), *Vishniacozyma* (*V. dimennae*, *V. foliicola*). Причем не все виды, выделенные на средах, были обнаружены ДНК-баркодингом, то есть эти подходы дополняли друг друга в обнаружение термофилов и термотолерантов. Ни культуральными методами, ни ДНК-баркодингом в грунтах источника не обнаружены хорошо известные термофилы из родов *Mucor* и *Rhizopus* [Maheshwari et al., 2000]. Следует отметить, что и в работах других авторов представителей этих таксонов встречали крайне редко или совсем не выявляли [Redman et al., 1999; Chen et al., 2000; Chen et al., 2003; Sharma et al., 2013; Ghajari et al., 2018; Özdemir, Uzel, 2020].

Отдельную группу составляют мезофильные виды. Некоторые из них имеют резистентные к высоким температурам аскоспоры

или меланизированные хламидоспоры, склеротии и мицелий [Dijksterhuis, 2007]. Помимо эврициевых родов *Byssoschlamys*, *Eurotium*, *Talaromyces*, *Eupenicillium* [Dijksterhuis, 2007; Di Piazza et al., 2020], такие виды есть среди родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Scopulariopsis*, *Penicillium*, терморезистентны *Chromelosporium fulvum*, *Knufia petricola* и ряд других [Domsch et al., 2007], которые были обнаружены в грунтах Горячинского источника. Большинство мезофилов гибнут в течение непродолжительного времени при 50–70°C. Вместе с тем, высокопроизводительным секвенированием тотального ДНК в грунтах такие грибы обнаружены, причем не только с низким относительным обилием. Это различные по эколого-трофической принадлежности грибы, например, ксилотрофные базидиомицеты (*Antrodia gossypium*, *Brunneoporus minutus*, *Ganoderma applanatum*, *Exidia glandulosa*), микоризообразователи (*Amanita porphyria*, *Suillus granulatus*, *S. variegatus*), сапротрофы, типичные для опада и минеральных горизонтов почв (роды *Cladosporium*, *Umbelopsis*), фитопатогены (*Paraphoma* spp., *Botrytis cinerea*) [Воронин, 2023 (Voronin, 2023); Domsch et al., 2007] (табл. 7). Обнаружены в довольно большом количестве представители *Archaeorhizomyces borealis*, *Archaeorhizomyces* sp. Находки этих организмов связаны, видимо, с поступлением в значительном количестве пропагул этих грибов в источник и неполной деградацией ДНК. Образцы отбирали в августе, наиболее благоприятном месяце для спорообразования и развития грибов, что обусловило возможность их массового попадания в источник из воздуха и окружающих природных лесных и антропогенных экотопов (с почвой, растительными и животными субстратами и другими). В Горячинском источнике из зооспоровых грибов в заметном количестве обнаружены хитридиевые порядка Rhizophydiales и ОТЕ отдела Rozellomycota. Среди них есть патогены водорослей, цветковых растений, других хитридие-

вых, сапротрофы, которые могут осуществлять деструкцию пыльцы растений в водоемах [Gleason et al., 2017].

Грунты горячего источника характеризуются значительным разнообразием оппортунистических патогенов, способных развиваться при температурах порядка 40°C. Это мицелиальные и дрожжевые виды родов *Aspergillus*, *Candida*, *Malassezia*, *Scedosporium apiospermum* и другие [Грибковые..., 2008 (Gribkovye..., 2008); Guarro et al., 2006, Domsch et al., 2007].

Для детального функционального анализа данных высокопроизводительного секвенирования, выявления обитателей горячих источников, как и других экстремальных экотопов, необходимо иметь больше информации о том, в каком диапазоне значений температуры, pH, солености и других параметров среды различные виды сохраняют жизнеспособность и развиваются. Пока этих сведений недостаточно. Следует отметить, что внедрение компьютерных программ для ускорения и унификации такого анализа позволяет проводить его для грибных сообществ быстрее [Nguyen et al., 2016; Tanunchai et al., 2023]. Новым приемом выявления активных обитателей из общего списка видов, обнаруживаемых в экотопе, является транскриптомный анализ, возможности которого продемонстрированы при изучении состава грибов в озерах [Lepere et al., 2019].

Термофилы и термотолерантные виды, можно полагать, одни из редуцентов в донных грунтах горячих источников, имеющих температуру до 50–60°C. Они способны расти и продуцировать гидролитические ферменты – амилазы, ксиланазы, фитиназы, хитиназы, протеазы, которые стабильно работают при таких температурах. Среди этих грибов есть виды – *Thermomyces duponti* (*Talaromyces thermophilus*), *T. lanuginosus* и *Thermoascus auratiacus*, которые могут осуществлять деструкцию и древесных субстратов в донных грунтах источника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования микобиоты на сегодня проведено только для некоторых термальных источников, а их на Земле – большое число, они существенно отличаются по физико-химическим параметрам (как по температуре, так и pH, содержанию солей, сероводорода, метана, кислорода, ионному составу и т.д.). Изучение позволит расширить наши представления о границах существования грибов в био-

сфере, механизмах адаптации к таким условиям, а также поспособствует поиску новых организмов и штаммов – продуцентов практически важных метаболитов. В ходе данной работы создана и поддерживается пересевом на сусло-агаре коллекция из 24 штаммов 19 термофильных и термотолерантных видов, которая представляет интерес для поиска продуцентов термостабильных ферментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке бюджетной темы “Экофизиология, цитология и генетика грибов как основа рационального природопользования и биотехнологий” № госрегистрации

(ЕГИСУ НИОКТР) 121032300079-4, гранта РФФИ (проект № 18-29-25073) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение 075-15-2021-1396). Авторы благодарны руководству Лимнологического института, Д.Ю. Щербакову – организатору плавучего университета “Байкал-эволюция”, в ходе проведения которого были отобраны образцы из Горячинского термального источника.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. М.: Товарищество науч. изд. КМК. 2004. 221 с.
- Бонч-Осмоловская Е.А., Мирошниченко М.Л., Слободкин А.И., Соколова Т.Г., Карпов Г.А., Кострикина Н.А., Заварзина Д.Г., Прокофьева М.И., Русанов И.И., Пименов Н.В. Биоразнообразие анаэробных литотрофных прокариот в наземных гидротермах Камчатки // Микробиология. 1999. Т. 68. № 3. С. 398–407.
- Бонч-Осмоловская Е.А., Мирошниченко М.Л. Термофильные бактерии из горячих источников Бурятии // Экологические проблемы микробиологии и биотехнологии Байкальского региона: Тез. докл. Междунар. конф. Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 1995. С. 47–49.
- Воронин Л.В. Грибы и грибоподобные организмы в пресноводных экосистемах: учебное пособие. Ярославль: “Филигрань”, 2023. 123 с.
- ГОСТ 11623-89. Торф и продукты его переработки для сельского хозяйства. Методы определения обменной и активной кислотности. Москва, 1990. 5 с.
- ГОСТ 26213-2021. Почвы. Методы определения органического вещества. Москва, 2021. 7 с.
- Грибковые инфекции: руководство для врачей. 2-е изд. М.: ООО “Издательство “БИНОМ. Лаборатория знаний”, 2008. 480 с.
- Дашиева Ж.Д. Фитоценотическая приуроченность и определение содержания флавоноидов в смилацине трехлистной. Растительный мир Байкальской природной территории: современное состояние и перспективы исследований: материалы региональной молодежной научно-практической конференции. Улан-Удэ, 2014, С. 13–14.
- Кочеткова Т.В., Подосокорская О.А., Ельченинов А.Г., Кубланов И.В. Разнообразие термофильных прокариот в природных горячих источниках Российской Федерации // Микробиология. 2022. Т. 91. № 1. С. 3–31. DOI: 10.31857/S0026365622010062.
- Меркель А.Ю., Подосокорская О.А., Соколова Т.Г., Бонч-Осмоловская Е.А. Разнообразие метаногенных архей в наземном горячем источнике 2012 (Долина гейзеров, Камчатка) // Микробиология. 2016. Т. 85. № 3. С. 327–336. DOI: 10.7868/S0026365616030095.
- Методика выполнения измерений массовой доли элементов в пробах почв, грунтов и донных отложений методами атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектроскопии. М-МВИ-80-2008. Санкт-Петербург. 2008. С. 27.
- Намсараев З.Б., Зайцева С.В., Дмитриева О.М., Бархутова Д.Д. Структура и функциональная активность микробных матов термального источника Гарга (Баргузинская котловина) // Вестник Бурятского государственного университета. Биология, география. 2011. № 4а. С. 231–239.
- Напрасникова Е.В., Белозерцева И.А. Почвы восточного побережья озера байкал и их эколого-микробиологическая характеристика // Вестник Камчатского государственного технического университета. 2020. № 54. С. 108–116. DOI: 10.17217/2079-0333-2020-54-108-116.
- Booth C. *Fusarium. Laboratory guide to the identification of the major species*. Surrey, England: C.M.I., Kew, 1977. 57 p.
- Chen K.Y., Huang D.J., Liu C.C. The mycoflora of hot spring soil in northern Taiwan // *Taiwania*. 2003. Vol. 48. № 3. P. 203–211.
- Chen M.Y., Chen Z.C., Chen K.Y., Tsay S.S. Fungal flora of hot springs of Taiwan (1): Wu-Rai // *Taiwania*. 2000. Vol. 45. № 2. P. 207–216.
- Crous P.W., Braun U., Schubert K., Groenewald J.Z. The genus *Cladosporium* and similar dematiaceous hyphomycetes // *Stud. Mycol.* 2007. Vol. 58. P. 1–253.
- De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J. *Atlas of Clinical Fungi*. 3rd edn. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, 2011. 1126 p.
- Di Piazza S., Houbaken J., Meijer M., Cecchi G., Kraak B., Rosa E., Zotti M. Thermotolerant and thermophilic mycobiota in different steps of compost maturation // *Microorganisms*. 2020. Vol. 8. № 6. P. 880. DOI: 10.3390/microorganisms8060880.
- Dijksterhuis J. *Food Mycology. Heat-resistant ascospores*. Eds.: Dijksterhuis J., Samson R.A. CRC Press, Boca Raton, 2007, pp. 101–117.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. *Compendium of soil fungi*. IHW-Verlag, Eching, 2007. 672 p.
- Ellis M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Surrey, England: C.M.I., Kew, 1971. 608 p.
- Ghajari A., Latifi A., Lotfali E. Fungal contamination of improved hot springs in Mazandaran province, fall 2014 // *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2017. Vol. 41. № 1. P. 50–55.
- Ghajari A., Latifi A., Niyati M., Lotfali E. An Investigation of Fungal Contamination in Hot Springs of Mahallat City, Summer 2016 (Iran) // *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2018. Vol. 11. № 12. P. 76–83.

- Gleason F.H., Scholz B., Jephcott T.G., van Ogtrop F.F., Henderson L., Lilje O., Kittelmann S., Macarthur D.J. Key ecological roles for zoospore true fungi in aquatic habitats // *Microbiol. Spectrum*. 2017. Vol. 5. № 2. P. 10–1128. DOI: 10.1128/microbiolspec.funk-0038-2016.
- Guarro J., Kantarcioglu A.S., Horré R., Rodriguez-Tudela J.L., Cuenca Estrella M., Berenguer J., de Hoog G.S. *Scedosporium apiospermum*: changing clinical spectrum of a therapy-refractory opportunist // *Med. Mycol.* 2006. Vol. 44. № 4. P. 295–327. DOI: 10.1080/13693780600752507.
- Grigoriev I.V., Cullen D., Goodwin S.B., Hibbett D., Jeffries T.W., Kubicek C.P., Kuske C., Magnuson J.K., Martin F., Spatafora J.W., Tsang A., Baker S.E. Fueling the future with fungal genomics // *Mycology*. 2011. Vol. 2, № 3. P. 192–209. DOI: 10.1080/21501203.2011.584577.
- Kambura A.K., Mwirichia R.K., Kasili R.W., Karanja E.N., Makonde H.M., Boga H.I. Diversity of fungi in sediments and water sampled from the hot springs of Lake Magadi and Little Magadi in Kenya // *Afr. J. Microbiol. Res.* 2016. Vol. 10, № 10. P. 330–338.
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. *Dictionary of the Fungi* (10th edition). CABI, Wallingford, UK, 2008. 2600 p.
- Klich M.A. *Identification of Common Aspergillus Species*. CBS, Utrecht, 2002. 528 p.
- Lee H., Tang H. *Evolutionary Genomics: Statistical and Computational Methods, Volume 1. Next-generation sequencing technologies and fragment assembly algorithms*. Totowa, NJ: Humana Press, 2012. P. 155–174.
- Lepere C., Domaizon I., Humbert J-F., Jardillier L., Hugoni M., Debroas D. Diversity, spatial distribution and activity of fungi in freshwater ecosystems // *Peer J*. 2019. Vol. 7. P. e6247. DOI: 10.7717/peerj.6247.
- Maheshwari R., Bharadwaj G., Bhat M.K. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000. Vol. 64. № 3. P. 461–488. DOI: 10.1128/mmb.64.3.461-488.2000.
- 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. Vol. 20. P. 241–248. DOI: 10.1016/j.funeco.2015.06.006.
- Özdemir S.Ç., Uzel A. Bioprospecting of some hot springs and compost in West Anatolia regarding phytase producing thermophilic fungi // *Sydowia*. 2020. Vol. 72. P. 1–11. DOI: 10.12905/0380.sydowia72-2020-0001.
- Raper K. B., Thom C. *A manual of the Penicillia*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1949. 878 p.
- Raper K.B., Fennell D.I. *The Genus Aspergillus*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1965. 686 p.
- Raper K.B., Thom C., Fennell D.I. *A Manual of the Penicillia*. New York and London: Hafner Publishing Company, 1968. 875 p.
- Ramírez C. *Manual and Atlas of the Penicillia*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. 874 p.
- Redman R.S., Litvintseva A., Sheehan K.B., Henson J.M., Rodriguez R.J. Fungi from geothermal soils in Yellowstone National Park // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. Vol. 65, № 12. P. 5193–5197. DOI: 10.1128/AEM.65.12.5193-5197.1999.
- Rifai M.A. A revision on the genus *Trichoderma* // *Mycological Prpers*. 1969. Vol. 116. P. 1–56.
- Salano O.A., Makonde H.M., Kasili R.W., Wangai L.N., Nawiri M.P., Boga H.I. Diversity and distribution of fungal communities within the hot springs of soda lakes in the Kenyan rift valley // *Afr. J. Microbiol. Res.* 2017. Vol. 11, № 19. P. 764–775.
- Samson R.A., Houbraken J. Phylogenetic and taxonomic studies on the genera *Penicillium* and *Talaromyces* // *Stud. Mycol.* 2011. Vol. 70. P. 1–183.
- Schipper M.A. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species; On the genera *Rhizomucor* and *Parasitella* // *Stud. Mycol.* 1978. Vol. 17. P. 1–71.
- Seifert K., Morgan-Jones G., Gams W., Kendrick B. *The Genera of Hyphomycetes*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, 2011. 997 p.
- Sharma N., Vyas G., Pathania S. Culturable diversity of thermophilic microorganisms found in hot springs of northern Himalayas and to explore their potential for production of industrially important enzymes // *Scholars Acad. J. Biosci.* 2013. Vol. 1, № 5. P. 165–178.
- Singh P., Raghukumar C., Verma P., Shouche Y., Fungal community analysis in the deep-sea sediments of the Central Indian Basin by culture-independent approach // *Microb. Ecol.* 2011. Vol. 61. P. 507–517. DOI: 10.1007/s00248-010-9765-8.
- Tanunchai B., Ji L., Schroeter S.A., Wahdan S.F.M., Hossen S., Delelegn Y., Buscot F., Lehnert A-S., Alves E.G., Hilke I., Gleixner G., Schulze E-D., Noll M., Purahong W. FungalTraits vs. FUNGuild: comparison of ecological functional assignments of leaf-and needle-associated fungi across 12 temperate tree species // *Microb. Ecol.* 2023. Vol. 85, № 2. P. 411–428. DOI: 10.1007/s00248-022-01973-2.
- Velez P., Salcedo D.L., Espinosa-Asuar L., Gasca-Pineda J., Hernandez-Monroy A., Soto L. A. Fungal Diversity in Sediments From Deep-Sea Extreme Ecosystems: Insights Into Low- and High-Temperature Hydrothermal Vents, and an Oxygen Minimum Zone in the Southern Gulf of California, Mexico // *Front. Mar. Sci.* 2022. Vol. 9. P. 802634. DOI: 10.3389/fmars.2022.802634.
- Von Arx J.A. *The Genera of fungi sporulating in pure culture*. 3rd edn. Vaduz: J. Cramer, 1981. 424 p.
- Xu W., Gong L. F., Pang K. L., Luo Z. H. Fungal diversity in deep-sea sediments of a hydrothermal vent system in the Southwest Indian Ridge // *Deep Sea Res.*, 2018. Vol. 131. Part I. P. 16–26. DOI: 10.1016/j.dsr.2017.11.001.

REFERENCES

Babyeva I.P., Chernov I.Y. *Yeast Biology*. Moscow, Tovarishestvo nauch. izd. KMK, 2004. 221 p. (In Russian)

- Bonch-Osmolovskaya E.A., Miroshnichenko M.L. Thermophilic bacteria from hot springs of Buryatia. *Ehkologicheskiye problemy microbiologii i biotekhnologii Baykal'skogo regiona: Tez. dokl. Mezhdunar. konf.* [Ecological Problems of Microbiology and Biotechnology of the Baikal Region: Proc. of Intern. Conf.]. Ulan-Ude, Izd-vo BNTS SO RAN, 1995, pp. 47–49. (In Russian)
- Bonch-Osmolovskaya E.A., Miroshnichenko M.L., Slobodkin A.I., Sokolova T.G., Karpov G.A., Kostrikin N.A., Zavarzina D.G., Prokof'yeva M.I., Rusanov I.I., Pimenov N.V. Biodiversity of anaerobic lithotrophic prokaryotes in terrestrial hot springs of kamchatka. *Mikrobiologiya*, 1999, vol. 68, no. 3, pp. 398–407. (In Russian)
- Booth C. *Fusarium. Laboratory guide to the identification of the major species.* Surrey, England, C.M.I., Kew, 1977. 57 p.
- Chen K.Y., Huang D.J., Liu C.C. The mycoflora of hot spring soil in northern Taiwan. *Taiwania*, 2003, vol. 48, no. 3, pp. 203–211.
- Chen M.Y., Chen Z.C., Chen K.Y., Tsay S.S. Fungal flora of hot springs of Taiwan (1): Wu-Rai. *Taiwania*, 2000, vol. 45, no. 2, pp. 207–216.
- Crous P.W., Braun U., Schubert K., Groenewald J.Z. The genus *Cladosporium* and similar dematiaceous hyphomycetes. *Stud. Mycol.*, 2007, vol. 58, pp. 1–253.
- Dashieva Z.D. Phytocenotic adjacency and determination of flavonoid content in *Smilacina trifolia*. *Rastitel'nyy mir Baykal'skoy prirodnoy territorii: sovremennoe sostoyaniye I perspektivy issledovaniy: materialy regional'noy molo-dezhnoy nauchno-practicheskoy konferentsii.* [Vegetation of the Baikal Natural Territory: Current State and Prospects of Research: Materials of the Regional Youth Scientific-Practical Conference]. Ulan-Ude, 2014, pp. 13–14. (In Russian)
- De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J. *Atlas of Clinical Fungi.* 3rd edn. Utrecht, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011. 1126 p.
- Di Piazza S., Houbraeken J., Meijer M., Cecchi G., Kraak B., Rosa E., Zotti M. Thermotolerant and thermophilic mycobiota in different steps of compost maturation. *Microorganisms*, 2020, vol. 8, no. 6, p. 880. doi: 10.3390/microorganisms8060880.
- Dijksterhuis J. *Food Mycology. Heat-resistant ascospores.* Boca Raton, CRC Press, 2007, pp. 101–117.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. *Compendium of soil fungi.* Eching, IHW-Verlag, 2007. 672 p.
- Ellis M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes.* Surrey, England, C.M.I., Kew, 1971. 608 p.
- Ghajari A., Latifi A., Lotfali E. Fungal contamination of improved hot springs in Mazandaran province, fall 2014. *Pe-jouhesh dar Pezeshki*, 2017, vol. 41, no. 1, pp. 50–55.
- Ghajari A., Latifi A., Niyati M., Lotfali E. An Investigation of Fungal Contamination in Hot Springs of Mahallat City, Summer 2016 (Iran). *Qom University of Medical Sciences Journal*, 2018, vol. 11, no. 12, pp. 76–83.
- Gleason F.H., Scholz B., Jephcott T.G., van Ogtrop F.F., Henderson L., Lilje O., Kittelmann S., Macarthur D.J. Key ecological roles for zoospore true fungi in aquatic habitats. *Microbiol. Spectrum*, 2017, vol. 5, no. 2, pp. 10–1128. doi: 10.1128/microbiolspec.funk-0038-2016.
- Gribkovye infekcii: rukovodstvo dlya vrachej [Fungal Infections: a Guide for Physicians]. Moscow, OOO "Izdatel'stvo "BINOM. Laboratoriya znaniy", 2008. 480 p. (In Russian)
- Grigoriev I.V., Cullen D., Goodwin S.B., Hibbett D., Jeffries T.W., Kubicek C.P., Kuske C., Magnuson J.K., Martin F., Spatafora J.W., Tsang A., Baker S.E. Fueling the future with fungal genomics. *Mycology*, 2011, vol. 2, no. 3, pp. 192–209. doi: 10.1080/21501203.2011.584577.
- Guarro J., Kantarcioglu A.S., Horré R., Rodriguez-Tudela J.L., Cuenca Estrella M., Berenguer J., de Hoog G.S. *Scedosporium apiospermum*: changing clinical spectrum of a therapy-refractory opportunist. *Med. Mycol.*, 2006, vol. 44, no. 4, pp. 295–327. doi: 10.1080/13693780600752507.
- Kambura A.K., Mwirichia R.K., Kasili R.W., Karanja E.N., Makonde H.M., Boga H.I. Diversity of fungi in sediments and water sampled from the hot springs of Lake Magadi and Little Magadi in Kenya. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2016, vol. 10, no. 10, pp. 330–338.
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. *Dictionary of the Fungi* (10th edition). Wallingford, UK, CABI, 2008. 2600 p.
- Klich M.A. *Identification of Common Aspergillus Species.* Utrecht, CBS, 2002. 528 p.
- Kochetkova T.V., Podosokorskaya O.A., El'cheninov A.G., Kublanov I.V. Diversity of thermophilic prokaryotes in natural hot springs of the Russian Federation. *Mikrobiologiya*, 2022, vol. 91, no. 1, pp. 3–31. (In Russian) doi: 10.31857/S0026365622010062.
- Lee H., Tang H. *Evolutionary Genomics: Statistical and Computational Methods, Volume 1. Next-generation sequencing technologies and fragment assembly algorithms.* Totowa, NJ, Humana Press, 2012, pp. 155–174.
- Lepere C., Domaizon I., Humbert J.-F., Jardillier L., Hugoni M., Debroas D. Diversity, spatial distribution and activity of fungi in freshwater ecosystems. *Peer J.*, 2019, vol. 7, p. e6247. doi: 10.7717/peerj.6247.
- Maheshwari R., Bharadwaj G., Bhat M.K. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2000, vol. 64, no. 3, pp. 461–488. doi: 10.1128/mmbr.64.3.461-488.2000.
- Merkel A.Y., Podosokorskaya O.A., Sokolova T.G., Bonch-Osmolovskaya E.A. Diversity of methanogenic archaea from the 2012 terrestrial hot spring (Valley of geysers, Kamchatka). *Mikrobiologiya*, 2016, vol. 85, no. 3, pp. 327–336. (In Russian) doi: 10.7868/S0026365616030095.
- Metodika vypolneniya izmerenij massovoj doli elementov v probah pochv, gruntov i donnyh otlozhenij metodami atomno-emissionnoj i atomno-absorbcionnoj spektrometrii [Methodology for measuring the mass fraction of ele-

- ments in soil, soil and bottom sediment samples by atomic emission and atomic absorption spectrometry methods]. M-MVI-80-2008. Saint-Petersburg, 2008. 27 p. (In Russian)
- Namsarayeva Z.B., Zaytseva S.V., Dmitriyeva O.M., Barchutova D.D. Structure and functional activity of microbial mats of Garga thermal spring (Barguzin Basin). *Vestnik Buryatskogo Gosudarstvennogo Universiteta: Biologiya, Geografiya*, 2011, no. 4a, pp. 231–239. (In Russian)
- Naprasnikova E.V., Belozertseva I.A. Soils of the eastern shore of Lake Baikal and their ecological and microbiological characterization. *Vestnik Kamchatskogo Gosudarstvennogo Universiteta*, 2020, no. 54, pp. 108–116. (In Russian) doi: 10.17217/2079-0333-2020-54-108-116.
- 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, vol. 20, pp. 241–248. doi: 10.1016/j.funeco.2015.06.006.
- Özdemir S.Ç., Uzel A. Bioprospecting of some hot springs and compost in West Anatolia regarding phytase producing thermophilic fungi. *Sydowia*, 2020, vol. 72, pp. 1–11. doi: 10.12905/0380.sydowia72-2020-0001.
- Ramírez C. Manual and Atlas of the Penicillia. Amsterdam, Elsevier Biomedical Press, 1982. 874 p.
- Raper K.B., Fennell D.I. The Genus *Aspergillus*. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1965. 686 p.
- Raper K.B., Thom C. A manual of the Penicillia. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1949. 878 p.
- Raper K.B., Thom C., Fennell D.I. A Manual of the Penicillia. New York and London, Hafner Publishing Company, 1968. 875 p.
- Redman R.S., Litvintseva A., Sheehan K.B., Henson J.M., Rodriguez R.J. Fungi from geothermal soils in Yellowstone National Park. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, vol. 65, no. 12, pp. 5193–5197. doi: 10.1128/AEM.65.12.5193-5197.1999.
- Rifai M.A. A revision on the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*, 1969, vol. 116, pp. 1–56.
- Salano O.A., Makonde H.M., Kasili R.W., Wangai L.N., Nawiri M.P., Boga H.I. Diversity and distribution of fungal communities within the hot springs of soda lakes in the Kenyan rift valley. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2017, vol. 11, no. 19, pp. 764–775.
- Samson R.A., Houbraken J. Phylogenetic and taxonomic studies on the genera *Penicillium* and *Talaromyces*. *Stud. Mycol.*, 2011, vol. 70, pp. 1–183.
- Schipper M.A. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species; On the genera *Rhizomucor* and *Parasitella*. *Stud. Mycol.*, 1978, vol. 17, pp. 1–71.
- Seifert K., Morgan-Jones G., Gams W., Kendrick B. The Genera of Hyphomycetes. Utrecht, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011. 997 p.
- Sharma N., Vyas G., Pathania S. Culturable diversity of thermophilic microorganisms found in hot springs of northern Himalayas and to explore their potential for production of industrially important enzymes. *Scholars Acad. J. Biosci.*, 2013, vol. 1, no. 5, pp. 165–178.
- Singh P., Raghukumar C., Verma P., Shouche Y., Fungal community analysis in the deep-sea sediments of the Central Indian Basin by culture-independent approach. *Microb. Ecol.*, 2011, vol. 61, pp. 507–517. doi: 10.1007/s00248-010-9765-8.
- State Standard 11623-89. Peat and products of its processing for agriculture. Methods for the determination of exchange and active acidity. Moscow, 1990. 5 p. (In Russian)
- State Standard 26213-2021. Soils. Methods for determination of organic matter. Moscow, 2021. 7 p. (In Russian)
- Tanunchai B., Ji L., Schroeter S.A., Wahdan S.F.M., Hossen S., Delelegn Y., Buscot F., Lehnert A-S., Alves E.G., Hilke I., Gleixner G., Schulze E-D., Noll M., Purahong W. FungalTraits vs. FUNGuild: comparison of ecological functional assignments of leaf-and needle-associated fungi across 12 temperate tree species. *Microb. Ecol.*, 2023, vol. 85, no. 2, pp. 411–428. doi: 10.1007/s00248-022-01973-2.
- Velez P., Salcedo D.L., Espinosa-Asuar L., Gasca-Pineda J., Hernandez-Monroy A., Soto L.A. Fungal Diversity in Sediments From Deep-Sea Extreme Ecosystems: Insights Into Low- and High-Temperature Hydrothermal Vents, and an Oxygen Minimum Zone in the Southern Gulf of California, Mexico. *Front. Mar. Sci.*, 2022, vol. 9, p. 802634. doi: 10.3389/fmars.2022.802634.
- Von Arx J.A. The Genera of fungi sporulating in pure culture. 3rd edn. Vaduz, J. Cramer, 1981. 424 p.
- Voronin L.V. Fungi and Fungus-like Organisms in Freshwater Ecosystems: Study Guide. Yaroslavl, Izd-vo Filigran', 2023. 123 p. (In Russian)
- Xu W., Gong L.F., Pang K.L., Luo Z.H. Fungal diversity in deep-sea sediments of a hydrothermal vent system in the Southwest Indian Ridge. *Deep Sea Res., Part I*, 2018, vol. 131, pp. 16–26. doi: 10.1016/j.dsr.2017.11.001.

MYCOBIOTA IN THE BOTTOM GROUNDS OF THE GORYACHINSKY THERMAL SPRING

A. V. Kurakov*, A. A. Tsarelunga

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology,
119234, Russia, Moscow, Leninskie Gory, 1, p. 12, e-mail: *kurakov57@mail.ru

Revised 6.09.2023

The number of colony-forming units (CFU), composition and taxonomic structure of fungal biota in the bottom grounds of the Goryachinsk geothermal spring (Buryatia, Russian Federation) were determined by the cul-

tural approach and the method of high-performance sequencing. The number of fungi in the grounds (0–3 cm) at the outlet of the spring and the watercourse at a short distance (3–100 m) varied in the range from several units to hundreds of CFU in 1 g. 70 isolates of fungi of 34 morphotypes were isolated by platings on nutrient media, of which 15 were identified to the species and 2 to the genus level. Its were thermophilic and thermotolerant species *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. nishimurae*, *A. terreus*, *Melanocarpus albomyces*, *Mycothermus thermophilus*, *Naganishia brisbanensis*, *Penicillium* sp., *Pseudothielavia terricola*, *Rhodotorula* sp., *Scedosporium apiospermum*, *Talaromyces flavus*, *Thermomyces dupontii*, *Thermothielavioides terrestris* and *Vishniacozyma carnescens*. The method of high-performance sequencing of the ITS2 rDNA site in the source soils revealed an order of magnitude greater diversity of fungi, 149 species of 132 genera, and a total of 160 species were detected by both approaches. The number of identified operational-taxonomic units (OTE) to the species was 64.4%. In addition to ascomycetes and basidiomycetes, which were detected by platings on nutrient media, DNA bar-coding showed the presence of representatives of the Phylums Mucoromycota, Mortierellomycota, Zoopagomycota, Chytridiomycota, Rozellomycota in the grounds. Moreover, among the fungi established by high-performance sequencing were not only thermotolerants, but also species with different resistance to high temperatures and trophic orientation. The application of both approaches provided more detailed information about the diversity of fungal organisms in the hot spring. However, in order to identify the inhabitant species of such ecotopes, a thorough analysis of their physiological and biochemical properties (which for many taxa is absent in due to volume) and the use of other approaches are necessary.

Keywords: fungi, thermal springs, bottom grounds