

УДК [582.282:551.352](262.3)

КУЛЬТУРАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ ИЗ ГЛУБОКОВОДНЫХ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ АДРИАТИЧЕСКОГО МОРЯ

© 2024 г. Н. И. Копытина¹, Е. А. Бочарова², Л. В. Гулина²

¹ФГБУН «Институт биологии внутренних вод имени И. Д. Папанина РАН»,
Борок, Российская Федерация

²ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: kopytina_n@mail.ru

Поступила в редакцию 18.06.2024; после доработки 02.08.2024;
принята к публикации 10.09.2024; опубликована онлайн 19.11.2024.

Впервые выявлены таксономический состав и особенности структуры комплексов грибов с горизонтов до 30 см ниже границы вода — дно в глубоководных донных отложениях Адриатического моря. Керн донных отложений 0–30 см был взят 18.10.2007 с борта НИС Palagruža (Хорватия) с помощью колончатого пробоотборника подводного телеработа QUEST 4000 на глубине 1020 м в точке с координатами 41°43′13″N, 17°34′19″E. Пробу серого ила разрезали на 30 частей толщиной в 1 см. Грибы выделяли на агаризованные среды Чапека и Сабуро, по две повторности на каждой среде, в аэробных условиях, при температуре +18 °C, с добавлением 3%-ного спиртового раствора хлорамфеникола (1 мл·л⁻¹ среды). Количество грибных колониеобразующих единиц (КОЕ) рассчитывали на 1 г сухого осадка. Обнаружили 16 таксонов; 12 определили до вида, 4 — до рода. Таксоны отнесены к 13 родам, 8 семействам, 7 порядкам, 5 классам отделов Ascomycota и Basidiomycota; также выделен стерильный мицелий. В горизонте осадка 0–1 см грибы не выявлены. Максимальная численность грибов составляла 4300 КОЕ·г⁻¹ сухого осадка (горизонт 6–7 см). Максимальное количество таксонов, 6, обнаружено в горизонте 14–15 см. В этом исследовании к отделу Ascomycota относились 87,5 % видов. По литературным данным составлены списки видов грибов из подстилающих горизонтов осадков Атлантического, Индийского и Тихого океанов и Чёрного моря, на основании которых вычислены значения таксономических индексов Δ^+ (average taxonomic distinctness index, AvTD) и Λ^+ (variation in taxonomic distinctness index, VarTD) и построены их графики. Анализ показал общую структуру микобиот водоёмов, о чём свидетельствуют значения индексов, входящие в 95%-ную доверительную воронку. Близкие значения индексов обусловлены доминированием видов грибов из классов Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Sordariomycetes и Saccharomycetes, составляющих от 73,13 % (Индийский океан) до 87,50 (Чёрное и Адриатическое моря) от видового состава.

Ключевые слова: глубоководные донные отложения, подстилающие слои, морские грибы, таксономические индексы

Микромицеты обитают в различных средах: морских, пресноводных, наземных — и сохраняют жизнеспособность в экстремальных условиях. В ряде работ с помощью культурально-зависимых и молекулярных методов было исследовано разнообразие грибов в глубоководных донных отложениях на глубинах от нескольких сантиметров до 1884 м ниже морского дна [Florio Furno et al., 2022; Jebaraj et al., 2010; Rojas-Jimenez et al., 2020; Rédou et al., 2015;

Xu et al., 2018]. Как правило, грибы, выделенные на разных горизонтах донных отложений, — это известные космополиты, которые способны адаптироваться к глубоководным условиям обитания [Damare et al., 2006; Rédou et al., 2015; Wang et al., 2019; Zhang et al., 2014]. Например, в дрожжах *Rhodotorula mucilaginosa* (A. Jørgensen) F. C. Harrison, 1927 есть антифризный белок, играющий важную роль в глубоководной адаптации [Rédou et al., 2015; Zhang et al., 2015].

Благодаря своему структурному и функциональному разнообразию глубоководные грибы, обитающие в морских отложениях на глубине более 1000 м от поверхности дна, стали важным источником промышленных, сельскохозяйственных и нутрицевтических соединений. На сегодняшний день в литературе описано более 180 биологически активных вторичных метаболитов, полученных из глубоководных грибов. К ним относятся соединения, которые обладают противоопухолевой, антимикробной, противогрибковой, противопротозойной и противовирусной активностью [Wang et al., 2015].

В осадках подводных каньонов Средиземного моря (Триказе и Кротоне) на глубинах от 200 до 1000 м было обнаружено 1742 грибковых OTU (operational taxonomic units, оперативные таксономические единицы), принадлежащих ко всем известным на сегодня типам грибов. Среди них доминировали представители отдела Ascomycota, известные роды составляли только 36 % [Barone et al., 2018].

Адриатическое море — часть Средиземного моря. Оно расположено между Апеннинским и Балканским полуостровами, является полузамкнутым, имеет площадь 138 600 км². Средняя глубина составляет 252 м, максимальная — 1230 м. Морское биоразнообразие Адриатики обусловлено множеством биогеографических, экологических, геологических и антропогенных факторов. На протяжении длительного времени оно претерпевает существенные изменения вследствие обогащения эндогенными веществами и в результате антропогенных воздействий — добычи углеводородов, интенсивного судоходства, рыболовства и аквакультуры, а также загрязнения пластиком и другими отходами хозяйственной деятельности [Lipej et al., 2022].

Доступных сведений о микобиоте донных отложений Южно-Адриатической котловины Адриатического моря найти не удалось, поэтому проведённые нами исследования являются актуальными. Цель настоящей работы — выявить таксономический состав и особенности структуры микокомплексов из разных горизонтов осадков Адриатического моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Керн донных отложений 0–30 см был взят 18 октября 2007 г. с борта НИС Palagruža (Хорватия) на глубине 1020 м в точке с координатами 41°43′13″N, 17°34′19″E. Солёность воды в месте отбора керна составляла 34 ‰. Отбор проб произвёл д. б. н., проф. С. Б. Гулин. Донные отложения взяты в районе Южно-Адриатической котловины с помощью колончатого пробоотборника подводного телеробота QUEST 4000. Пробу серого ила разрезали на 30 частей толщиной в 1 см (0–1, 1–2, 2–3... 29–30 см). Эти образцы осадков поместили в стерильные чашки Петри и хранили в морозильной камере при температуре –18 °С до обработки в лаборатории (1 месяц).

Грибы выделяли методом посева суспензий осадков на агаризованные среды Чапека и Сабуро, приготовленные на искусственной морской воде, по две повторности на каждой среде. Так, 1 мл суспензии осадка в разведении 1 : 10 вносили в чашку Петри и заливали расплавленной средой, охлаждённой примерно до +45 °С, в которую для подавления роста бактерий добавляли 3%-ный спиртовой раствор хлорамфеникола (1 мл·л⁻¹ среды). Чашки с материалом инкубировали в термостате при температуре +18 °С в аэробных условиях в течение месяца. Из выросших колоний выделяли чистые культуры, которые использовали для идентификации грибов; часть изолятов была определена до рода.

Количество грибных зародышей рассчитывали на 1 г сухого осадка по формуле:

$$A = a \times b \times v / g ,$$

где A — среднее число колониеобразующих единиц в грамме сухого осадка (КОЕ·г⁻¹);

a — среднее количество колоний грибов в чашках Петри (КОЕ);

b — разведение, из которого сделан посев;

v — масса влажного осадка, г;

g — масса сухого осадка, г [Методы экспериментальной микологии, 1982].

Делали две одинаковые навески из образца осадка. Одну из них высушивали до постоянного веса при +105 °С в сухожаровом шкафу.

Микромицеты определяли по морфолого-культуральным признакам, применяя [Билай, Коваль, 1988; Atlas of Clinical Fungi, 2000]. Все названия грибов проверили в электронной базе данных Index Fungorum [2024].

Данные обработаны с использованием MS Office Excel и пакета статистических программ PRIMER 5.2.8. Видовое сходство микокомплексов рассчитано по коэффициенту Брея — Кёртиса на основании наличия/отсутствия таксона, исходя из частоты его встречаемости относительно общего количества проб (функция Similarity). Индекс Шеннона микокомплексов по горизонтам отложений вычислен по количеству таксонов и их численности (DIVERSE).

По литературным данным авторы составили список видов морских микромицетов, которые были выделены из разных горизонтов донных отложений Индийского океана (до 4,7 м) [Damare et al., 2006; Raghukumar, Raghukumar, 1998; Raghukumar et al., 2010; Xu et al., 2018; Zhang et al., 2014], Тихого океана (до 1884 м) [Keeler, 2021; Rédou et al., 2015; Xu et al., 2014], Атлантического океана (до 5 м) [Keeler, 2021] и Чёрного моря (до 40 см) [Копытина и др., 2024; Zaitsev, Polikarpov, 2008]. В случае отсутствия видовой идентификации, но указания рода микромицета другим автором в список включали название рода с обозначением sp. 1. Список состоит из 182 названий таксонов, выделенных методом посева или идентифицированных методами генетического анализа (точность до 98 %).

Список использовали для расчёта показателей таксономического состава грибных комплексов, чтобы построить графики таксономических индексов для каждого рассматриваемого региона. Индексы вычислены на основании данных о наличии или отсутствии вида с учётом родственных отношений между видами (от вида до отдела) и количества видов в каждом сообществе. Δ^+ — индекс средней таксономической отличительности, или таксономического своеобразия (average taxonomic distinctness index, AvTD); Λ^+ — индекс вариабельности (variation in taxonomic distinctness index, VarTD). Они показывают сходство/различие видовой структуры микокомплексов (TAXDTEST). Графики индексов дают статистическое обоснование родства структуры в пределах сообщества. Так, Δ^+ — средняя длина связей в ряду видов таксономического дерева; этот индекс отражает вертикальные связи (количество семейств, порядков и т. д.). Λ^+ — дисперсия парных длин родственных связей; этот индекс воспроизводит горизонтальную пропорцию сообщества (число таксонов на каждом уровне иерархического дерева) [Clarke et al., 2014].

Процентное содержание численности грибов из разных отделов вычисляли как отношение суммарной численности таксонов отдела к общей численности выделенных в образцах осадков. Частоту встречаемости таксонов рассчитывали, принимая количество образцов (30) за 100 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Впервые выполнены послонные исследования глубоководных донных отложений ниже границы вода — дно до глубины 30 см в Адриатическом море. До вида идентифицированы 12 таксонов грибов, до рода — 4. Микромицеты отнесены к отделам Ascomycota и Basidiomycota.

Также выделен стерильный мицелий. Большинство видов были сгруппированы в отделе Ascomycota; по количеству представителей доминировали классы Sordariomycetes (5 видов), Dothideomycetes (4) и Eurotiomycetes (4).

В исследуемых осадках все виды микромицетов были представлены наземными видами-космополитами.

Частота встречаемости таксонов изменялась от 3,3 (*Alternaria tenuissima* и *Cladosporium sphaerospermum*) до 56,7 % (*Metschnikowia* sp. 1). В 18 горизонтах отложений выявлено по 1–2 таксона. Информация о систематической принадлежности микромицетов, их распределении по горизонтам осадков и численности представлена в табл. 1.

Таблица 1. Видовой состав, численность и распространение грибов в осадках Адриатического моря (слои 0–30 см)

Table 1. Species composition, abundance, and distribution of fungi in sediments of the Adriatic Sea (0–30-cm layers)

Вид гриба	Горизонт осадка, см	Численность гриба, КОЕ·г ⁻¹ сухого осадка (min–max)
Отдел Ascomycota, класс Dothideomycetes		
<i>Alternaria chartarum</i> Preuss, 1851	8–9, 11–12, 14–15, 24–25	30–180
<i>Al. tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire, 1933	18–19	90
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penzig, 1882	11–12	30
<i>Stemphylium sarciniforme</i> (Cavara) Wiltshire, 1938	4–5, 11–12, 13–14, 14–15, 20–21, 24–25	35–100
Класс Eurotiomycetes		
<i>Aspergillus flavus</i> Link, 1809	17–18, 27–28	40–100
<i>As. fumigatus</i> Fresenius, 1863	16–17, 19–20	40–80
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom, 1910	9–10, 14–15, 15–16, 17–18, 24–25	30–90
<i>Penicillium</i> sp. 1	5–6, 6–7, 17–18, 27–28	30–440
Класс Sordariomycetes		
<i>Acremonium</i> sp. 1	20–21, 21–22, 28–29, 29–30	16–96
<i>Amesia atrobrunnea</i> (L. M. Ames) X. Wei Wang et Samson, 2016	6–7, 13–14, 15–16	30–487
<i>Botryotrichum murorum</i> (Corda) X. Wei Wang et Samson, 2016	4–5, 5–6, 6–7, 13–14	30–792
<i>Chaetomium elongatum</i> Czerepanova, 1962	6–7, 13–14	80–860
<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenberg) S. Hughes, 1958	1–2, 14–15, 20–21	30–41
Класс Saccharomycetes		
<i>Metschnikowia</i> sp. 1	2–3, 3–4, 6–7, 8–9, 10–11, 11–12, 12–13, 14–15, 17–18, 18–19, 19–20, 20–21, 22–23, 23–24, 25–26, 27–28, 29–30	90–1720
Отдел Basidiomycota, класс Tremellomycetes		
<i>Trichosporon asteroides</i> (Rischin) M. Ota, 1926	9–10, 26–27	60–90
Класс Malasseziomycetes		
<i>Malassezia</i> sp. 1	1–2, 5–6, 16–17, 21–22, 28–29	150–300
Неидентифицированные таксоны		
<i>Mycelia sterilia</i> 1	2–3, 7–8, 14–15	30–70
<i>Mycelia sterilia</i> 2	25–26	240

В горизонте осадков 0–1 см грибы не обнаружены. В слое 14–15 см выявлено максимальное число таксонов — 6. В слое 7–8 см зарегистрирован только стерильный мицелий. Сходство видового состава грибов по горизонтам изменялось от 0,0 (не найдено общих таксонов) до 100,0 % (выделен один вид, *Metschnikowia* sp. 1) (горизонты отложений 3–4, 10–11, 12–13, 22–23 и 23–24 см). Численность грибов колебалась от 0 (слой 0–1 см) до 4300 КОЕ·г⁻¹ сухого осадка (6–7 см), значение индекса видового разнообразия Шеннона составляло от 0 до 1,55. $H'(\log_e) = 0$ в случае выделения одного вида или отсутствия видов (7 горизонтов отложений) (табл. 2).

В образцах осадков по количеству видов и по численности доминировали представители отдела Ascomycota — 88,9 и 89,64 % соответственно.

Таблица 2. Показатели численности и таксономического разнообразия грибов в горизонтах глубоководных отложений Адриатического моря (0–30 см)

Table 2. Indicators of fungi abundance and taxonomic diversity in deep-sea sediment horizons of the Adriatic Sea (0–30 cm)

Горизонт осадка, см	Количество таксонов	Численность, КОЕ·г ⁻¹ сухого осадка	Индекс Шеннона, $H'(\log_e)$
0–1	0	0	0,000
1–2	2	330	0,305
2–3	2	240	0,604
3–4	1	160	0,000
4–5	2	200	0,693
5–6	3	420	0,759
6–7	5	4300	1,480
7–8	1	30	0,000
8–9	2	300	0,637
9–10	2	90	0,637
10–11	1	400	0,000
11–12	4	570	1,094
12–13	1	100	0,000
13–14	4	240	1,330
14–15	6	380	1,550
15–16	2	120	0,562
16–17	2	220	0,474
17–18	4	400	1,321
18–19	2	220	0,677
19–20	2	420	0,451
20–21	4	574	0,895
21–22	2	178	0,416
22–23	1	480	0,000
23–24	1	360	0,000
24–25	3	120	1,040
25–26	2	640	0,662
26–27	2	160	0,685
27–28	3	190	0,910
28–29	2	250	0,673
29–30	2	176	0,305

В образцах не было выявлено какой-либо закономерности в распределении количества таксонов и численности грибов по горизонтам отложений. Это можно объяснить небольшим количеством исследованных образцов и определёнными ограничениями при выделении микроскопических грибов методом культивирования.

ОБСУЖДЕНИЕ

Во многих работах по глубоководным отложениям Мирового океана указаны таксономические ранги на уровне семейств, порядков, классов, отделов или только родовая принадлежность грибов, что создаёт трудности при сравнении видового состава в водоёмах. Мы составили список из 182 видов грибов, которые были отнесены к 93 родам, 56 семействам, 31 порядку, 13 классам из отделов Ascomycota, Basidiomycota и Mucoromycota. Показатели таксономического богатства и разнообразия комплексов грибов в подстилающих горизонтах осадков Адриатического и Чёрного морей, Атлантического, Индийского и Тихого океанов представлены в табл. 3.

Таблица 3. Показатели таксономического богатства и разнообразия комплексов грибов из глубоководных донных отложений Адриатического и Чёрного морей, Атлантического, Индийского и Тихого океанов (р — род; с — семейство; в — вид)

Table 3. Indices of taxonomic richness and diversity of fungal complexes from deep-sea sediments of the Adriatic and Black seas and Atlantic, Indian, and Pacific oceans (p, genus; c, family; v, species)

Водоём	Количество таксонов					Пропорции		
	вид	род	семейство	порядок	класс	р/с	в/с	в/р
Отдел Ascomycota								
Адриатическое море	15	12	8	6	4	1,50	1,76	1,25
Чёрное море	21	10	8	7	4	1,25	2,62	2,1
Атлантический океан	34	15	12	11	5	1,25	2,83	2,27
Индийский океан	68	37	23	12	6	1,61	2,96	1,84
Тихий океан	63	39	24	15	6	1,63	2,63	1,62
Отдел Basidiomycota								
Адриатическое море	2	2	2	2	2	1,00	1,00	1,00
Чёрное море	2	2	2	2	2	1,00	1,00	1,00
Атлантический океан	4	4	3	3	4	1,33	1,33	1,00
Индийский океан	18	15	10	8	6	1,50	1,80	1,20
Тихий океан	16	12	8	7	3	1,50	2,00	1,33
Отдел Mucoromycota								
Адриатическое море	0	0	0	0	0	0	0	0
Чёрное море	1	1	1	1	1	1,00	1,00	1,00
Атлантический океан	0	0	0	0	0	0	0	0
Индийский океан	0	0	0	0	0	0	0	0
Тихий океан	1	1	1	1	1	1,00	1,00	1,00

Сходство видового состава грибов, выделенных из осадков Адриатического моря и Индийского океана, составляет 5,8 (общими являются виды *Penicillium chrysogenum* и *Cladosporium sphaerospermum* и дрожжи рода *Malassezia*), Атлантического океана — 10,9 (*Alternaria tenuissima*, *C. sphaerospermum* и *P. chrysogenum*), Тихого океана — 18,56 (*Aspergillus fumigatus*, *As. flavus*, *C. sphaerospermum*, *P. chrysogenum* и *Stachybotrys chartarum*, а также виды из родов *Acremonium*, *Metschnikowia* и *Meyerozyma*), Чёрного моря — 34,2 % (*Al. tenuissima*, *As. fumigatus*, *Botryotrichum murorum*, *C. sphaerospermum* и *S. chartarum*, а также дрожжи из родов *Metschnikowia* и *Malassezia*). Семь видов микромицетов и представители четырёх родов, выделенные из образцов донных отложений Адриатического моря, обнаружены и в других районах

Мирового океана [Копытина и др., 2024; Edgcomb et al., 2002; Kiel Reese et al., 2021; Pachiadaki et al., 2016; Rojas-Jimenez et al., 2020; Rédou et al., 2014, 2015; Xu et al., 2018, 2019; Zhang et al., 2014; Zhou et al., 2021].

Глубоководные осадки Чёрного моря заражены сероводородом, однако некоторые виды дрожжевых и мицелиальных грибов легко адаптируются к постоянным или временным условиям аноксии, используя кислород из поражённого ими материала, потому что являются факультативным анаэробами [Кураков и др., 2008, 2011].

Графики таксономических индексов Δ^+ и Λ^+ отражают общую закономерность вертикального и горизонтального распределения низших таксонов (вид, род) по более высоким таксономическим рангам в пяти водоёмах (рис. 1А, Б).

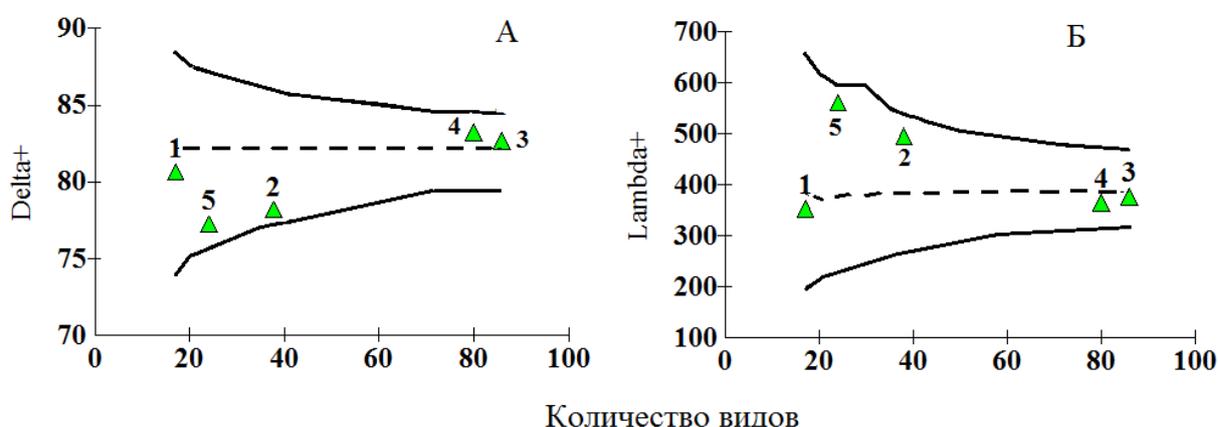


Рис. 1. Значения таксономических индексов Δ^+ (А) и Λ^+ (Б) для микокомплексов подстилающих горизонтов осадков разных водоёмов, рассчитанных согласно общему списку видов этих водоёмов (1 — Адриатическое море; 2 — Атлантический океан; 3 — Индийский океан; 4 — Тихий океан; 5 — Чёрное море). Сплошными линиями обозначена воронка 95%-ной вероятности; пунктиром — среднее расчётное значение индекса

Fig. 1. Values of taxonomic indices Δ^+ (A) and Λ^+ (B) for fungal complexes in underlying sediment horizons in different water bodies calculated according to the general list of species from these water bodies (1, the Adriatic Sea; 2, the Atlantic Ocean; 3, the Indian Ocean; 4, the Pacific Ocean; 5, the Black Sea). Solid lines denote the 95% probability funnel; dashed line denotes the mean calculated value of the index

На рис. 1А значения индексов Δ^+ входят в вероятностную воронку. Следовательно, структуры микокомплексов подобны и статистически значимо не различаются, а распределение низших таксонов по более высоким рангам соответствует среднему, на что указывают значения индексов (77,23–82,66). Несмотря на то, что в водоёмах обнаружено разное количество высших таксонов (2–3 отдела, 7–12 классов), общая структура сохраняла пропорциональность, а близкие значения индексов были обусловлены наличием видов грибов классов Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Sordariomycetes, Saccharomycetes и Malasseziomycetes, которые составляли от 71,25 % (Тихий океан) до 94,12 % (Адриатическое море) от видового состава.

На рис. 1Б значения индексов Λ^+ находятся в пределах доверительной воронки расчётного среднего ожидаемого значения. Следовательно, в комплексах подстилающих слоёв осадков глубоководных отложений Адриатического и Чёрного морей, а также Атлантического, Тихого и Индийского океанов выявлено высокое сходство таксономической структуры (с учётом распределения видов по более высоким таксономическим рангам). Этот факт подтверждается пропорциями в/р (см. табл. 3): значения изменяются в пределах от 1,21 до 2,00.

Исследования, выполненные культуральными и транскриптомными методами, показали: в подстиляющих отложениях Мирового океана доминируют грибы из отделов Ascomycota (43–80 %) и Basidiomycota (3–20 %). Неидентифицированные виды грибов составляют 2,4–64 %, представители отдела Zygomycota — 0,55–1,5 %, а Chytridiomycota — 0,8 % [Barone et al., 2018; Florio Furno et al., 2022; Jebaraj et al., 2010; Rojas-Jimenez et al., 2020; Vargas-Gastélum, Riquelme, 2020; Xu et al., 2018, 2019; Zhang et al., 2016]. В разных горизонтах глубоководных осадков часто присутствуют таксоны из классов Eurotiomycetes, Sordariomycetes, Dothideomycetes и Saccharomycetes (Ascomycota), а также Tremellomycetes и Malasseziomycetes (Basidiomycota). Представители перечисленных классов были выделены в образцах осадков Адриатического моря. В данном исследовании к отделу Ascomycota относились 87,5 % видов, к Basidiomycota — 12,5 %. Подобность микокомплексов подтверждают графики таксономических индексов.

В водах и донных осадках Адриатического моря доминируют виды родов *Penicillium* и *Aspergillus*; также обнаружены представители *Cladosporium*, *Alternaria* и *Chaetomium* [Muntañola-Cvetković, Ristanović, 1980; Ristanović et al., 1975]. Это говорит о том, что грибы данных родов являются характерными обитателями Адриатического моря.

Заключение. В керне осадков Адриатического моря до глубины 30 см выделены 16 таксонов грибов из отделов Ascomycota и Basidiomycota, а также *Mycelia sterilia*. По количеству представителей доминировали классы Sordariomycetes (5 видов), Dothideomycetes (4) и Eurotiomycetes (4) (отдел Ascomycota). Полученные результаты согласуются с литературными данными о микромицетах из глубоководных отложений, в том числе из подстиляющих горизонтов из других районов Мирового океана. Анализ таксономической структуры микокомплексов подстиляющих слоёв глубоководных отложений Адриатического и Чёрного морей, а также Атлантического, Тихого и Индийского океанов, который выполнен с использованием таксономических индексов Δ^+ и Λ^+ , продемонстрировал общность их структуры, о чём свидетельствуют значения индексов, входящих в 95%-ную доверительную воронку. Близкие значения индексов обусловлены доминированием видов грибов из классов Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Sordariomycetes и Saccharomycetes, составляющих от 73,13 % (Индийский океан) до 87,50 % (Чёрное и Адриатическое моря) от видового состава.

Глубоководные микромицеты изучены недостаточно. Именно поэтому необходимы дальнейшие детальные и скоординированные исследования их биологического разнообразия, количественных характеристик, экологической роли, а также адаптивных механизмов к различным условиям существования в разных районах Мирового океана.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИБВВ РАН по теме «Разнообразие, структура, функционирование и роль вирусов, прокариотных и эукариотных микроорганизмов в формировании биологического режима континентальных вод» (№ гос. регистрации 124032500012-6) и ФИЦ ИнБЮМ по темам «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов» (№ гос. регистрации 124022400152-1) и «Изучение биогеохимических закономерностей радиоэкологических и хемозкологических процессов в экосистемах водоёмов Азово-Черноморского бассейна в сравнении с другими акваториями Мирового океана и отдельными водными экосистемами их водосборных бассейнов для обеспечения устойчивого развития на южных морях России» (№ гос. регистрации 124030100127-7).

Благодарность. Авторы выражают сердечную признательность [Сергею Борисовичу Гулину], доктору биологических наук, профессору, который участвовал в рейсе НИС Palagruža и выполнил отбор проб донных отложений, а также оказал помощь в изучении морских микромицетов. С апреля 2015 г. по май 2016 г. С. Б. Гулин исполнял обязанности директора Института морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН в городе Севастополе, а затем до 27 сентября 2018 г. занимал должность директора этого института (ныне ФИЦ ИнБЮМ). Также авторы благодарят анонимных рецензентов, замечания которых помогли повысить качество рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Билай В. И., Коваль Э. З. *Аспергиллы* : определитель. Киев : Наукова думка, 1988. 204 с. [Bilay V. I., Koval' E. Z. *Aspergilly* : opredelitel'. Kyiv : Naukova dumka, 1988, 204 p. (in Russ.)]
2. Копытина Н. И., Бочарова Е. А., Гулина Л. В. Новые находки культивируемых микромицетов в глубоководных отложениях Чёрного моря // *Труды Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН*. 2024. № 105 (108). С. 45–53. [Kopytina N., Bocharova E., Gulina L. New findings of cultured micromycetes in the deep-sea sediments of the Black Sea. *Trudy Instituta biologii vnutrennikh vod im. I. D. Papanina RAN*, 2024, no. 105 (108), pp. 45–53. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.47021/0320-3557-2024-45-53>
3. Кураков А. В., Лаврентьев Р. Б., Нечитайло Т. Ю., Голышин П. Н., Звягинцев Д. Г. Разнообразие факультативно-анаэробных микелиальных микроскопических грибов в почвах // *Микробиология*. 2008. Т. 77, № 1. С. 103–112. [Kurakov A. V., Lavrent'ev R. B., Nechitailo T. Yu., Golyshin P. N., Zvyagintsev D. G. Diversity of facultatively anaerobic microscopic mycelial fungi in soils. *Mikrobiologiya*, 2008, vol. 77, no. 1, pp. 103–112. (in Russ.)]
4. Кураков А. В., Хидиров К. С., Садыкова В. С., Звягинцев Д. Г. Способность к анаэробному росту и активность спиртового брожения у микроскопических грибов // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2011. Т. 47, № 2. С. 187–193. [Kurakov A. V., Khidirov K. S., Sadykova V. S., Zvyagintsev D. G. Anaerobic growth ability and alcohol fermentation activity of microscopic fungi. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2011, vol. 47, no. 2, pp. 187–193. (in Russ.)]
5. *Методы экспериментальной микологии* : справочник. Киев : Наукова думка, 1982. 550 с. [*Metody eksperimental'noi mikologii* : spravochnik. Kyiv : Naukova dumka, 1982, 550 p. (in Russ.)]
6. *Atlas of Clinical Fungi*. 2nd ed. / G. S. de Hoog, J. Guarro, J. Gene, M. J. Figueras (Eds). Utrecht : Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000, 1126 p.
7. Barone G., Rastelli E., Corinaldesi C., Tangherlini M., Danovaro R., Dell'Anno A. Benthic deep-sea fungi in submarine canyons of the Mediterranean Sea. *Progress in Oceanography*, 2018, vol. 168, pp. 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.09.011>
8. Clarke K. R., Gorley R. N., Somerfield P. J., Warwick R. M. *Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation*. 3rd ed. Plymouth : PRIMER-E, 2014, 260 p.
9. Damare S., Raghukumar C., Raghukumar S. Fungi in deep-sea sediments of the Central Indian Basin. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2006, vol. 53, iss. 1, pp. 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2005.09.005>
10. Edgcomb V. P., Kysela D. T., Teske A., de Vera Gomez A., Sogin M. L. Benthic eukaryotic diversity in the Guaymas Basin hydrothermal vent environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, vol. 99, no. 11, pp. 7658–7662. <https://doi.org/10.1073/pnas.062186399>
11. Florio Furno M., Poli A., Ferrero D., Tardelli F., Manzini C., Oliva M., Pretti C., Campani T., Casini S., Fossi M. C., Varese G. C., Prigione V. The culturable mycobiota of sediments and associated microplastics: From a harbor to a marine protected area, a comparative study. *Journal of Fungi*, 2022, vol. 8, iss. 9, art. no. 927 (18 p.). <https://doi.org/10.3390/jof8090927>
12. *Index Fungorum* / Royal Botanic Gardens, Kew : [site]. URL: <https://www.kew.org/science> [accessed: 23.04.2024].
13. Jebaraj C. S., Raghukumar C., Behnke A., Stoeck T. Fungal diversity in oxygen-depleted regions of the Arabian Sea revealed by targeted environmental sequencing combined with cultivation. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, vol. 71, iss. 3, pp. 399–412. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00804.x>
14. Keeler E., Burgaud G., Teske A., Beaudoin D., Mehiri M., Dayras M., Cassand J., Edgcomb V. Deep-sea hydrothermal vent sediments reveal diverse fungi with antibacterial activities. *FEMS Microbiology Ecology*, 2021, vol. 97, iss. 8, art. no. fiab103 (20 p.). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab103>
15. Kiel Reese B., Sobol M. S., Bowles M. W., Hinrichs K.-U. Redefining the subsurface biosphere: Characterization of fungi isolated from energy-limited marine deep subsurface sediment. *Frontiers in Fungal Biology*, 2021, vol. 2, art. no. 727543 (19 p.).

- <https://doi.org/10.3389/ffunb.2021.727543>
16. Lipej L., Kovačić M., Dulčić J. An analysis of Adriatic ichthyofauna—ecology, zoogeography, and conservation status. *Fishes*, 2022, vol. 7, iss. 2, art. no. 58 (29 p.). <https://doi.org/10.3390/fishes7020058>
 17. Muntañola-Cvetković M., Ristanović B. A mycological survey of the South Adriatic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1980, vol. 43, iss. 3, pp. 193–206. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(80\)90047-7](https://doi.org/10.1016/0022-0981(80)90047-7)
 18. Pachiadaki M. G., Rédou V., Beaudoin D. J., Burgaud G., Edgcomb V. P. Fungal and prokaryotic activities in the marine subsurface biosphere at Peru Margin and Canterbury Basin inferred from RNA-based analyses and microscopy. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7, art. no. 846 (16 p.). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00846>
 19. Raghukumar C., Damare S. R., Singh P. A review on deep-sea fungi: Occurrence, diversity and adaptations. *Botanica Marina*, 2010, vol. 53, no. 6, pp. 479–492. <https://doi.org/10.1515/bot.2010.076>
 20. Raghukumar C., Raghukumar S. Barotolerance of fungi isolated from deep-sea sediments of the Indian Ocean. *Aquatic Microbial Ecology*, 1998, vol. 15, no. 2, pp. 153–163. <https://doi.org/10.3354/ame015153>
 21. Ristanović B., Muntañola-Cvetković M., Munjko I. Phenoldegrading fungi from South Adriatic Sea and Lake Skadar. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 1975, vol. 1, iss. 4, pp. 313–322. <https://doi.org/10.1007/BF01382690>
 22. Rojas-Jimenez K., Grossart H.-P., Cordes E., Cortés J. Fungal communities in sediments along a depth gradient in the Eastern Tropical Pacific. *Frontiers in Microbiology*, 2020, vol. 11, art. no. 575207 (9 p.). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575207>
 23. Rédou V., Ciobanu M. C., Pachiadaki M. G., Edgcomb V., Alain K., Barbier G., Burgaud G. In-depth analyses of deep subsurface sediments using 454-pyrosequencing reveals a reservoir of buried fungal communities at record-breaking depths. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, vol. 90, iss. 3, pp. 908–921. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12447>
 24. Rédou V., Navarri M., Meslet-Cladière L., Barbier G., Burgaud G. Species richness and adaptation of marine fungi from deep-subseafloor sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, vol. 81, no. 10, pp. 3571–3583. <https://doi.org/10.1128/AEM.04064-14>
 25. Vargas-Gastélum L., Riquelme M. The mycobiota of the deep sea: What omics can offer. *Life*, 2020, vol. 10, iss. 11, art. no. 292 (18 p.). <https://doi.org/10.3390/life10110292>
 26. Wang Y. T., Xue Y. R., Liu C. H. A brief review of bioactive metabolites derived from deep-sea fungi. *Marine Drugs*, 2015, vol. 13, iss. 8, pp. 4594–4616. <https://doi.org/10.3390/md13084594>
 27. Wang Z.-P., Liu Z.-Z., Wang Y.-L., Bi W.-H., Liu L., Wang H.-Y., Zheng Y., Zhang L.-L., Hu S.-G., Xu S.-S., Zhang P. Fungal community analysis in seawater of the Mariana Trench as estimated by Illumina HiSeq. *RSC Advances*, 2019, vol. 9, no. 12, pp. 6956–6964. <https://doi.org/10.1039/c8ra10142f>
 28. Xu W., Gao Y., Gong L., Li M., Pang K.-L., Luo Z.-H. Fungal diversity in the deep-sea hadal sediments of the Yap Trench by cultivation and high throughput sequencing methods based on ITS rRNA gene. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2019, vol. 145, pp. 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.02.001>
 29. Xu W., Gong L., Pang K.-L., Luo Z.-H. Fungal diversity in deep-sea sediments of a hydrothermal vent system in the Southwest Indian Ridge. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2018, vol. 131, pp. 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.11.001>
 30. Xu W., Pang K.-L., Luo Z.-H. High fungal diversity and abundance recovered in the deep-sea sediments of the Pacific Ocean. *Microbial Ecology*, 2014, vol. 68, pp. 688–698. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0448-8>
 31. Zaitsev Y. P., Polikarpov G. G. Recently discovered new biospheric pelocontour function in the Black Sea reductive bathyal zone. *Journal of the Black Sea / Mediterranean Environment*, 2008, vol. 14, no. 3, pp. 151–165.
 32. Zhang T., Wang N. F., Zhang Y. Q., Liu H. Y., Yu L. Y. Diversity and distribution of fungal communities in the marine sediments of Kongsfjorden, Svalbard (High Arctic). *Scientific Reports*, 2015, vol. 5, art. no. 14524 (11 p.). <https://doi.org/10.1038/srep14524>

33. Zhang X., Tang G., Xu X., Nong X., Qi S.-H. Insights into deep-sea sediment fungal communities from the East Indian Ocean using targeted environmental sequencing combined with traditional cultivation. *PLoS One*, 2014, vol. 9, iss. 10, art. no. e109118 (11 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109118>
34. Zhang X.-Y., Wang G.-H., Xu X.-Y., Nong X.-H., Wang J., Amin M., Qi S.-H. Exploring fungal diversity in deep-sea sediments from Okinawa Trough using high-throughput Illumina sequencing. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2016, vol. 116, pp. 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2016.08.004>
35. Zhou Y., Gao X., Shi C., Li M., Jia W., Shao Z., Yan P. Diversity and anti-aflatoxigenic activities of culturable filamentous fungi from deep-sea sediments of the South Atlantic Ocean. *Mycobiology*, 2021, vol. 49, iss. 2, pp. 151–160. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1871175>

CULTURAL STUDY OF MICROMYCETES FROM DEEP-SEA BOTTOM SEDIMENTS OF THE ADRIATIC SEA

N. Kopytina¹, E. Bocharova², and L. Gulina²

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, Borok, Russian Federation

²A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: kopytina_n@mail.ru

For the first time, taxonomic composition of fungi and features of structure of their complexes were identified for horizons down to 30 cm below the water–bottom boundary in deep-sea bottom sediments of the Adriatic Sea. A 0–30-cm core of bottom sediments was sampled on 18.10.2007 from aboard the RV “Palagruža” (Croatia) with a column sampler of a QUEST 4000 remotely operated vehicle at a 1,020-m depth (41°43′13″N, 17°34′19″E). The sample of gray silt was cut into 30 sections, each 1 cm thick. Fungi were isolated on Czapek agar and Sabouraud agar, two replicates on each medium, under aerobic conditions, at +18 °C, with chloramphenicol 3% alcohol solution added (1 mL per 1 L of a medium). Abundance of fungal colony-forming units (CFU) was calculated per 1 g of dry sediment. Sixteen taxa were found; 12 were identified down to the species level, and 4, to the genus level. The taxa were assigned to 13 genera, 8 families, 7 orders, and 5 classes of the phyla Ascomycota and Basidiomycota; sterile mycelium was identified as well. Fungi were not recorded in a horizon of 0–1 cm. Maximum abundance of fungi was 4,300 CFU·g⁻¹ dry sediment (a horizon of 6–7 cm). Maximum number of taxa, 6, was revealed for a horizon of 14–15 cm. In the sample studied, 87.5% of fungal species belonged to Ascomycota. Based on literature data, we compiled a list of fungal species known for various sediment horizons of the Atlantic, Indian, and Pacific oceans and the Black Sea. This list was used to calculate two indices, Δ^+ (average taxonomic distinctness index, AvTD) and Λ^+ (variation in taxonomic distinctness index, VarTD), and to plot graphs. The analysis showed the similarity of mycobiota structure of the water basins as evidenced by values of the indices within the 95% confidence interval. Close values of the indices are due to the prevalence of fungal species representing the classes Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Sordariomycetes, and Saccharomycetes; those account for 73.13% (the Indian Ocean) to 87.50% (the Black and Adriatic seas) of the species composition.

Keywords: deep-sea bottom sediments, underlying horizons, marine fungi, taxonomic distinctness indices