

ДНК з навколишнього середовища як інструмент екологічного моніторингу грибних угруповань

Валентин М. ПОМОГАЙБО, Яна М. МАКАРЕНКО

Полтавський національний педагогічний університет ім. В.Г. Короленка

вул. Остроградського, 2, Полтава 36000, Україна

vmptom@ukr.net

ya_makarenko@ukr.net

Pomohaybo V.M., Makarenko Ya.M. **Environmental DNA as a tool for ecological monitoring of fungal communities.** Ukr. Bot. J., 2017, 74(5): 442–448.

V.G. Korolenko Poltava National Pedagogical University
2, Ostrohradskyi Str., Poltava 36000, Ukraine

Abstract. An overview of recently published data on fungal communities based on the environmental DNA technology is provided. In most cases, these scarce data result from the wide range biodiversity studies of eukaryotes while detecting species richness of fungi from eDNA is still poorly studied. However, recent eDNA analyses have already revealed numerous undescribed taxa of fungi in various ecosystems. They also demonstrated that eDNA technology may considerably increase the total number of fungal species comparatively with those described so far using traditional methods. Environmental DNA barcoding as an efficient technique for detecting fungal diversity in various ecosystems provides new insights into the evolution of fungi.

Keywords: fungi, environmental DNA, eDNA barcoding, fungal diversity, evolution

Вступ

Гриби широко розповсюджені у природі й відіграють визначальну роль у біосфері (Deacon, 2006). Трапляються на рослинних і тваринних організмах, у воді, ґрунті, на відмерлих рештках, сировині та продуктах харчування тощо. Перш за все, вони є редуцентами, і тому беруть участь у ґрунтоутворювальному процесі та кругообігу речовин і енергії в природі. Чимало видів є збудниками численних захворювань рослин, тварин і людини. Гриби відомі також як симбіонти водоростей, коменсали тварин і як важлива складова частина мікоризних структур на коренях наземних рослин. Значна кількість грибів є джерелом важливих речовин, корисних для людини, – антибіотиків, вітамінів, ферментів, органічних кислот тощо.

Сучасна класифікація грибів розроблена переважно на основі вивчення знайдених у природі плодових тіл або культивованих у лабораторних умовах видів. При цьому поза увагою залишаються численні види грибів, які розвиваються в ґрунті, відкладеннях, воді, осадах тощо. Такі гетерогенні середовища є часто малодоступними, що ускладнює безпосередні мікроскопічні дослідження (Arnold et al., 2000; O'Brien et al., 2005).

Донедавна налічувалось близько 98 тис. видів грибів (Kirk et al., 2008), але реальна їхня різноманітність залишається невідомою. Наприкінці минулого століття було висловлене припущення про 1,5 млн видів (Hawksworth, 1991, 2001), основане на екстраполяції кількості нових видів, виявлених на суходольних рослинах Західної Європи. Багато дослідників вважають, що видів грибів значно більше, ніж описано (O'Brien et al., 2005; Suh et al., 2005). Так, лише за допомогою молекулярно-генетичного аналізу ДНК вмісту кишківника твердокрилих із 27 родин, зібраних у різних географічних регіонах (із врахуванням морфологічних і метаболічних особливостей цих комах), було виявлено 650 видів одноклітинних аско- і базидіоміцетів, у т.ч. близько 200 неописаних таксонів, що становить 30% кількості описаних видів (Suh et al., 2005). Серед них домінують аскоміцети, що брунькуються, з класу *Saccharomycetes*, які споріднені з відомим видом пекарських дріжджів *S. cerevisiae* Meuell ex E.C. Hansen. За даними авторів, найбільше генотипів кишечних грибів (близько 50) виявлено в жуків родини чорнотілок (*Tenebrionidae*) та грибовиків (*Erotylidae*).

Загалом метод молекулярно-генетичного аналізу вільної ДНК з навколишнього середовища, започаткований мікробіологами ще у 80-х роках минулого століття (Olsen et al., 1986; Ogram et al., 1987),

виявився надзвичайно ефективним у вивченні як сучасного, так і давнього біорізноманіття на Землі. ДНК з навколишнього середовища (environmental DNA, або eDNA) – це ДНК, яка може бути виділена із зразків ґрунту, води, осади, льоду чи повітря без попереднього видалення будь-яких живих організмів. Вона містить складну суміш клітинної (геномної) та позаклітинної (деградованої в результаті загибелі клітин та подальшого руйнування) ДНК різних організмів (Taberlet et al., 2012). За певних умов eDNA різноманітних організмів може залишатися у довкіллі протягом досить тривалого часу. Наприклад, у воді її період напіврозпаду становить лише кілька годин (Paul et al., 1987, 1989) або тижнів (Poté et al., 2009; Dejean et al., 2011; Thomsen et al., 2011, 2012), а в осадах, ґрунтах і льодовиках вона може зберігатися набагато довше – від кількох тисяч (Haile et al., 2007) до півмільйона років (Willerslev et al., 2003, 2007). ДНК з навколишнього середовища, особливо із давніх зразків, є надзвичайно фрагментованою та хімічно зміненою під дією різноманітних фізичних, хімічних і біологічних чинників довкілля (Willerslev et al., 2004; Deagle et al., 2006; Gilbert et al., 2007; Pietramellara et al., 2009; Briggs et al., 2010; Allentoft et al., 2012; Overballe-Petersen et al., 2013). У більшості випадків вивільнена з організму ДНК руйнується, переважно внаслідок дії бактеріальних і грибних екзонуклеаз (Blum et al., 1997).

Приналежність eDNA до того чи іншого виду організмів визначається, якщо в генетичному матеріалі зразка із навколишнього середовища наявні особливий короткий ДНК-маркер або штрих-код (DNA barcode). Таким штрих-кодом може бути специфічна некодуюча ділянка певного гена довжиною близько 600 пар нуклеотидів. При цьому найчастіше використовують мітохондріальні гени, наприклад ген цитохромоксидази чи ген рибосомної РНК або хромосомний ген рибосомної РНК (Hebert et al., 2003; Kress et al., 2005; Epp et al., 2012). У зразках ґрунту, осаду чи води кількість eDNA звичайно незначна, тому її необхідно клонувати до обсягу, необхідного для подальшого аналізу, за допомогою так званої полімеразної ланцюгової реакції (polymerase chain reaction, PCR) (Kolmodin et al., 2002; Garibyan et al., 2013). Оскільки технологія ДНК-маркерів виявилася вельми корисною для моніторингу давнього і сучасного біорізноманіття різних екосистем, наразі відбувається перехід від одномаркерного аналізу видів та угруповань орга-

нізмів до метагеномних обстежень цілих екосистем (eDNA metabarcoding), в т. ч. й для прогнозування просторових і часових моделей біорізноманіття (Thomsen, Willerslev, 2015).

Гриби в екосистемах суходолу

У XXI ст. вивчення грибних угруповань за допомогою eDNA-аналізу набуло поширення. Деякі мікологи досліджували наявність і різноманітність грибних таксонів у ґрунті та на рослинах з метою виявлення важливих екологічних факторів, які впливають на рослини (Horton et al., 2001; Buchan et al., 2002; Vandenkoornhuysen et al., 2002). Інші вчені зосереджувались на вивченні різноманітності ґрунтових евкаріотів (Lawley et al., 2004; Lesaulnier et al., 2008) та грибів (Schadt et al., 2003; O'Brien et al., 2005) з метою пізнання складної структури їхніх угруповань. Ці напрямки досліджень засвідчили, що гриби є надзвичайно важливою частиною ґрунтових екосистем. Навіть у зразках ґрунту з Антарктиди частка генотипів грибів у загальній масі одноклітинних евкаріотів (грибів, водоростей та найпростіших) становить близько 20% (Lawley et al., 2004), а в ґрунтах помірного клімату частка грибів серед усіх організмів – 30% (Lesaulnier et al., 2008).

Виявлено також, що у зразках польового ґрунту із різних континентів домінують представники відділу *Ascomycota*. Їхня частка у загальній масі грибів (4747 грибних філотипів, які належать до 173 родин) становить 23–77% залежно від типу ґрунту та географічної зони (Prober et al., 2015). В окремих випадках переважають гриби з відділів *Basidiomycota* та/або *Zygomycota*.

Традиційно вважалося, що у покритому снігом ґрунті тундри не може бути активних форм життя. Однак за методом генетичного аналізу eDNA із зразків такого ґрунту виявлено ознаки досить активної та динамічної життєдіяльності численних видів аскоміцетів, 40% яких були невідомі (Schadt et al., 2003). Останні утворюють два великі відгалуження у філогенезі аскоміцетів. Подальше вивчення однієї з цих груп аскоміцетів показало, що вони досить розповсюджені в ґрунтах різних регіонів Землі – від Північної Америки і Європи до Австралії (Porter et al., 2008). Оскільки в досліджених зразках близько двох третин eDNA не вдалося ідентифікувати через недостатню кількість матеріалу, було висловлене припущення, що реальне

різноманіття грибів цієї групи значно більше, ніж вдалося визначити.

Як відомо, численні види грибів утворюють мікоризу з коренями рослин. Дослідження eDNA показали, що наявна інформація про поширеність мікоризних видів грибів та їхній філогенез також обмежена. Наприклад, на коренях лише одного виду рослин – райграсу французького (*Arrhenatherum elatius* (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl) – було виявлено 50 видів грибів, із яких 23 досі невідомі (Vandenkoornhuuse et al., 2002). Вони належать до відділів: *Ascomycota* – 25 видів, *Basidiomycota* – 16, *Zygomycota* – 8 і *Chytridiomycota* – 1. Нещодавно описано новий клас ґрунтових аскоміцетів – *Archaeorhizomycetes* (підвідділ *Taphrinomycotina*), який нараховує сотні видів. Ці гриби, хоча й розвиваються у кореневій зоні рослин, не формують мікориз і є сапротрофами (Rosling et al., 2011). Оскільки значна частина видів грибів стала відома лише завдяки аналізу eDNA, припускається, що дотепер описана зовсім невелика частина реального різноманіття грибів.

Цікаві дослідження грибів-ендофітів з використанням eDNA технології були здійснені в тропічному лісі Папуа Нової Гвінеї (Vincent et al., 2016). Виявлена чітка видова специфічність цих грибів, при цьому просторовий фактор не впливав на структуру системи "живитель-паразит". Угрупування грибів з класу *Dacrymycetes* (*Agaricomycotina*, *Basidiomycota*), які розкладають деревину в лісових екосистемах, досліджували за трьома методами: обстеження колекції плодівих тіл, лабораторне культивування та аналіз eDNA (Shirouzu et al., 2016). Виявлено відповідно 11, 10 та 16 таксономічних одиниць, із них ідентифіковано 3, 7 і 7 нових ліній, які можна використовувати для з'ясування шляхів еволюції *Dacrymycetes*. Для продуктивного та достовірного виявлення невідомих ланок філогенезу грибів автори рекомендують комбінувати два методи – лабораторне культивування та аналіз ДНК з навколишнього середовища.

Гриби у водних екосистемах

Морські гриби. Видова різноманітність і роль грибів у водних екосистемах також недостатньо вивчені. При дослідженні ізолюваних культур морських грибів виявлена незначна їхня кількість – всього 467 описаних видів, що складає близько 0,5% усіх відомих видів грибів (Damare et al., 2008; Burgaud et al., 2009). Найбільш поширеними морськими

грибами є дріжджі (одноклітинні аско- та базидіоміцети), які розвиваються у забрудненій воді, планктоні, на макроводоростях тощо (Kohlmeier et al., 1979).

Гриби в морському середовищі відіграють важливу роль редуцентів (Mann, 1988; Raghukumar, 2004). Вони забезпечують інші організми важливими поживними сполуками – амінокислотами, вітамінами тощо (Mann, 1988). Наприклад, ракоподібні для росту потребують ненасичених жирних кислот, які надходять у поживні ланцюги бентосу лише завдяки життєдіяльності мікроскопічних грибів (Raghukumar, 2004). Встановлено також, що хоча гриби досить поширені в морських осадах та нижніх шарах води з низьким вмістом кисню, вони майже відсутні у верхньому шарі не лише відкритого океану, а й біля берегів (Richards et al., 2005; Massana et al., 2008).

eDNA-аналіз зразків води з Аравійського моря та осадів із глибини 25 м, де недостатній вміст кисню, показав значну різноманітність грибів різних типів (Jebaraj et al., 2010). Було ідентифіковано 48 нових філотипів, із яких 27 належать до *Ascomycota*, 20 – до *Basidiomycota* та 1 – до *Zygomycota*. Представників відділу *Chytridiomycota* у цих зразках не виявлено. Показано також, що зі збільшенням глибини моря наявність грибів зменшується (Soumya et al., 2013).

За допомогою eDNA-аналізу в зразках морських осадів із глибини 640 м були виявлені угруповання різноманітних одноклітинних еукаріотів, переважно дріжджових видів грибів (Takishita et al., 2006). За результатами іншого дослідження, у морській воді на глибині 500–4200 м та поблизу гідротермальних джерел видове різноманіття грибів виявилось незначним, з домінуванням аско- та базидіоміцетів, які на філогенетичній схемі розташовуються поруч із групою дріжджів. При цьому було виявлено сім унікальних філотипів із групи задньоджгутикових грибів, шість з яких раніше були невідомі (Bass et al., 2007). Ці філотипи за морфологічними ознаками переважно нагадують відомі патогенні гриби і, можливо, є збудниками мікозів глибоководних тварин (Dover et al., 2007).

Подальші дослідження зразків морської води поряд із гідротермальними джерелами теж показали наявність ДНК у кількох нових філогенетичних ліній грибів. Наприклад, було виявлено три філотипи базидіоміцетів та два – хитридіоміцетів (Le Calvez et al., 2009). Результати цього дослідження,

як і попередніх, підтверджують, що глибоководні угруповання морських грибів за видовим складом досить бідні і серед них домінують дріжджові види аско- та базидіоміцетів.

Прісноводні гриби. Обстеження угруповань евкаріотичних мікроорганізмів у прісноводному середовищі нещодавно також розпочали здійснювати на основі аналізу ДНК з навколишнього середовища. Найчастіше використовують зразки води, взяті з водойми (Amaral-Zettler et al., 2002; Berney et al., 2004; Lefranc et al., 2005; Šlapeta et al., 2005; Lefèvre et al., 2007). Деякі дослідники вивчали відмерлі талом водоростей, інокульованих у лабораторних умовах мікроорганізмами із озерної води (Hannep et al., 1999). На відміну від морського середовища (Massana et al., 2008), у прісноводних екосистемах співвідношення грибів і евкаріотів досить високе і варіює в межах 19–33% (Berney et al., 2004; Lepère et al., 2006; Lefèvre et al., 2007, 2008). До того ж, у прісній воді більша частка так званих "нижчих" грибів та/або хитридіоміцетів (Lefranc et al., 2005; Šlapeta et al., 2005; Lefèvre et al., 2007, 2008), а в морській – справжніх (дикаріотичних) грибів (*Dikarya*) (Bass et al., 2007; Jebaraj et al., 2010). Це однозначно підтверджується і результатами дослідження надзвичайно різноманітного угруповання споріднених із грибами одноклітинних евкаріотів (*Cryptomycota*), виділених переважно з екосистем прісної води та водних осадів. Припускається, що ця клада представляє одну з базальних гілок у філогенії грибів (Jones et al., 2011).

Висновки

Отже, на основі огляду літературних джерел, які висвітлюють результати вивчення угруповань грибів за допомогою аналізу ДНК зразків з навколишнього середовища, встановлено, що у більшості випадків вони представляють частину більш широких досліджень евкаріотичного біорізноманіття. Роботи, присвячені виключно eDNA-аналізу грибів, є поки що малочисленими. Однак ці дослідження переконливо свідчать, що у природі значно більше видів грибів, ніж описано на сьогодні з використанням традиційних методів візуального та мікроскопічного обстеження і лабораторного культивування. Цілком очевидно, що подальше використання новітніх методів eDNA-аналізу грибів значно доповнить сучасні уявлення про біорізноманітність та еволюцію грибів.

СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Allentoft M.E., Collins M., Harker D., Haile J., Oskam Ch.L., Hale M.L., Campos P.F., Samaniego J.A., Gilbert M.Th.P., Willerslev E., Zhang G., Scofield R.P., Holdaway R.N., Bunce M. The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils. *Proc. R. Soc. B.*, 2012, 279(1748): 4724–4733. doi:10.1098/rspb.2012.1745.
- Amaral-Zettler L.A., Gómez F., Zettler E., Keenan B.G., Amils R., Sogin M.L. Eukaryotic diversity in Spain's river of fire. *Nature*, 2002, 417(6885): 137.
- Arnold A.E., Maynard Z., Gilbert G.S., Coley P.D., Kursar T.A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecol. Lett.*, 2000, 3(4): 267–274.
- Bass D., Howe A., Brown N., Barton H., Demidova M., Michelle H., Li L., Sanders H., Watkinson S.C., Willcock S., Richards T.A. Yeast forms dominate fungal diversity in the deep oceans. *Proc. Biol. Sci.*, 2007, 274(1629): 3069–3077. doi:10.1098/rspb.2007.1067.
- Berney C., Fahrni J., Pawlowski J. How many novel eukaryotic «kingdoms»? Pitfalls and limitations of environmental DNA surveys. *BMC Biol.*, 2004, 2(13): 1–13.
- Blum S.A.E., Lorenz M.G. Mechanism of retarded DNA degradation and prokaryotic origin of DNases in non-sterile soils. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1997, 20(4): 513–521.
- Briggs A.W., Stenzel U., Meyer M., Krause J., Kircher M., Pääbo S. Removal of deaminated cytosines and detection of in vivo methylation in ancient DNA. *Nucleic Acids Res.*, 2010, 38(6), e87. doi:10.1093/nar/gkp1163.
- Buchan A., Newell S.Y., Moreta J.I., Moran M.A. Analysis of internal transcribed spacer regions of rRNA genes in fungal communities in a southeastern U.S. salt marsh. *Microbiol. Ecol.*, 2002, 43(3): 329–340. doi:10.1007/s00248-001-1062-0
- Burgaud G., Le Calvez T., Arzur D., Vandenkoornhuyse P., Barbier G. Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environ. Microbiol.*, 2009, 11(6): 1588–1600. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01886.x.
- Damare S., Raghukumar C. Fungi and macroaggregation in deep-sea sediments. *Microbiol. Ecol.*, 2008, 56(1): 168–177.
- Deacon J. *Fungal biology*. 4 ed., Oxford: Wiley-Blackwell, 2006, vii+372 pp.
- Deagle B.E., Eveson J.P., Jarman S.N. Quantification of damage in DNA recovered from highly degraded samples – a case study on DNA in faeces. *Front. Zool.*, 2006, 3(11): 1–10.
- Dejean T., Valentini A., Duparc A., Pellier-Cuit S., Pompanon F., Taberlet P., Miaud C. Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. *PLoS ONE*, 2011, 6(8), e23398. doi:10.1371/journal.pone.0023398.
- Dover C.L. van, Ward M.E., Scott J.L., Underdown J., Andersen B., Gustafson C., Whalen M., Carnegie R.B. A fungal epizootic in mussels at a deep-sea hydrothermal vent. *Mar. Ecol.*, 2007, 28(1): 54–62. doi:10.1111/j.1439-0485.2006.00121.x.
- Epp L.S., Boessenkool S., Bellemain E.P., Haile J., Esposito A., Riaz T., Erséus C., Gusarov V.I., Edwards M.E., Johnsen A., Stenøien H.K., Hassel K., Kausarud H., Yoccoz N.G., Bråthen K.A., Willerslev E., Taberlet P.,

- Coissac E., Brochmann C. New environmental metabarcodes for analysing soil DNA: potential for studying past and present ecosystems. *Mol. Ecol.*, 2012, 21(8): 1821–1833. doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05537.x.
- Garibyan L., Avashia N. Polymerase Chain Reaction. *J. Investig. Derm.*, 2013, 133(3), e6: 1–4. doi:10.1038/jid.2013.1.
- Gilbert M.Th.P., Djurhuus D., Melchior L., Lynnerup N., Worobey M., Wilson A.S., Andreasen C., Dissing J. mtDNA from hair and nail clarifies the genetic relationship of the 15th century Qilakitsoq Inuit mummies. *Amer. J. Phys. Anthropol.*, 2007, 133(2): 847–853. doi:10.1002/ajpa.20602.
- Haile J., Holdaway R., Oliver K., Bunce M., Gilbert M.Th.P., Nielsen R., Munch K., Ho S.Y.W., Shapiro B., Willerslev E. Ancient DNA chronology within sediment deposits: are paleobiological reconstructions possible and is DNA leaching a factor? *Mol. Biol. Evol.*, 2007, 24(4): 982–989. doi:10.1093/molbev/msm016.
- Hannan E.J. van, Mooij W., van Agterveld M.P., Gons H.J., Laanbroek H.J. Detritus-dependent development of the microbial community in an experimental system: qualitative analysis by denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65(6): 2478–2484.
- Hawksworth D.L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycol. Res.*, 1991, 95(6): 641–655.
- Hawksworth D.L. The magnitude of fungal diversity: the 1,5 million species estimate revisited. *Mycol. Res.*, 2001, 105(12): 1422–1432. doi:10.1017/S0953756201004725.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball Sh.L., Ward J.R. de. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Roy. Soc. B.*, 2003, 270(1512): 313–321. doi:10.1098/rspb.2002.2218.
- Horton T.R., Bruns T.D. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Mol. Ecol.*, 2001, 10(8): 1855–1871.
- 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 Microbiol. Ecol.*, 2010, 71(3): 399–412. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00804.x.
- Jones M.D.M., Forn I., Gadelha C., Egan M.J., Bass D., Massana R., Richards T.A. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. *Nature*, 2011, 474(7350): 200–203. doi:10.1038/nature09984.
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. *Dictionary of the Fungi*. 10th ed., UK: CABI Europe, 2008, xi+748 pp.
- Kohlmeyer J., Kohlmeyer E. *Marine mycology: the higher fungi*, New York: Acad. Press, 1979, xiv+690 pp.
- Kolmodin L.A., Birch D.E. Polymerase chain reaction: Basic principles and routine practice. In: *Methods in molecular biology*. 2 ed. Eds B.-Y. Chen, H.W. Janes, Totowa (NJ): Humana Press Inc., 2002, vol. 192, pp. 3–18.
- Kress W.J., Wurdack K.J., Zimmer E.A., Weigt L.A., Janzen D.H. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, 102(23): 8369–8374. doi:10.1073/pnas.0503123102.
- Lawley B., Ripley S., Bridge P., Convey P. Molecular analysis of geographic patterns of eukaryotic diversity in Antarctic soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70(10): 5963–5972. doi:10.1128/AEM.70.10.5963–5972.2004.
- Le Calvez T., Burgaud G., Mahé S., Barbier G., Vandenkoornhuysen P. Fungal diversity in deep-sea hydrothermal ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, 75(20): 6415–6421. doi:10.1128/AEM.00653-09.
- Lefèvre E., Bardot C., Noël C., Carrias J.F., Viscogliosi E., Amblard C., Sime-Ngando T. Unveiling fungal zooflagellates as members of freshwater picoeukaryotes: evidence from a molecular diversity study in a deep meromictic lake. *Environ. Microbiol.*, 2007, 9(1): 61–71. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01111.x.
- Lefèvre E., Roussel B., Amblard C., Sime-Ngando T. The molecular diversity of freshwater picoeukaryotes reveals high occurrence of putative parasitoids in the plankton. *PLoS ONE*, 2008, 3(6), e2324: 1–10. doi:10.1371/journal.pone.0002324.
- Lefranc M., Thénot A., Lepère C., Debroas D. Genetic diversity of small eukaryotes in lakes differing by their trophic status. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, 71(10): 5935–5942. doi:10.1128/AEM.71.10.5935–5942.2005.
- Lepère C., Boucher D., Jardillier L., Domaizon I., Debroas D. Succession and regulation factors of small eukaryote community composition in a lacustrine ecosystem (Lake Pavin). *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, 72(4): 2971–2981. doi:10.1128/AEM.72.4.2971–2981.2006.
- Lesaulnier C., Papamichail D., McCorkle S., Ollivier B., Skiena S., Taghavi S., Zak D., van der Lelie D. Elevated atmospheric CO₂ affects soil microbial diversity associated with trembling aspen. *Environ. Microbiol.*, 2008, 10(4): 926–941. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01512.x.
- Mann K.H. Production and use of detritus in various freshwater, estuarine, and coastal marine ecosystems. *Limn. Oceanogr.*, 1988, 33(4(2)): 910–930.
- Massana R., Pedrós-Alió C. Unveiling new microbial eukaryotes in the surface ocean. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2008, 11(3): 213–218. doi:10.1016/j.mib.2008.04.004.
- O'Brien H.E., Parrent J.L., Jackson J.A., Moncalvo J.-M., Vilgalys R. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, 71(9): 5544–5550. doi:10.1128/AEM.71.9.5544–5550.2005.
- Ogram A., Sayler G.S., Barkay T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *J. Microbiol. Methods*, 1987, 7(2–3): 57–66.
- Olsen G.J., Lane D.J., Giovannoni S.J., Pace N.R., Stahl D.A. Microbial ecology and evolution: a ribosomal RNA approach. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1986, 40: 337–365.
- Overballe-Petersen S., Harms K., Orlando L.A.A., Mayar V.M., Rasmussen S., Dahl T.W., Rosing M.T., Poole A.M., Sicheritz-Ponten Th., Brunak S., Inselmann S., Vries J. de, Wäckernagel W., Pybus O.G., Nielsen B., Johnsen P.J., Nielsen K.M., Willerslev E. Bacterial natural transformation by highly fragmented and damaged DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, 110(49): 19860–19865. doi:10.1073/pnas.1315278110.
- Paul J.H., Jeffrey W.H., DeFlaun M.F. Dynamics of extracellular DNA in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, 53(1): 170–179.

- Paul J.H., Jeffrey W.H., David A.W., DeFlaun M.F., Cazares L.H. Turnover of extracellular DNA in eutrophic and oligotrophic freshwater environments of southwest Florida. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, 55(7): 1823–1828.
- Pietramellara G., Ascher J., Borgogni F., Ceccherini M.T., Guerri G., Nannipieri P. Extracellular DNA in soil and sediment: fate and ecological relevance. *Biol. Fertil. Soils*, 2009, 45(3): 219–235. doi:10.1007/s00374-006-0156-8.
- Porter T.M., Schadt C.W., Rizvi L., Martin A.P., Schmidt S.K., Scott-Denton L., Vilgalys R., Moncalvo J.M. Widespread occurrence and phylogenetic placement of a soil clone group adds a prominent new branch to the fungal tree of life. *Mol. Phylogen. Evol.*, 2008, 46(2): 635–644. doi:10.1016/j.ympev.2007.10.002.
- Poté J., Mavingui P., Navarro E., Rosselli W., Wildi W.P., Vogel T.M. Extracellular plant DNA in Geneva groundwater and traditional artesian drinking water fountains. *Chemosphere*, 2009, 75(4): 498–504. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.12.048.
- Prober S.M., Leff J.W., Bates S.T., Scott T., Borer E.T., Firm J., Harpole W.S., Lind E.M., Seabloom E.W., Adler P.B., Bakker J.D., Cleland E.E., DeCrappeo N.M., DeLorenze E., Hagenah N., Hautier Y., Hofmockel K.S., Kirkman K.P., Knops J.M.H., La Pierre K.J., MacDougall A.S., McCulley R.L., Mitchell C.E., Risch A.C., Schuetz M., Stevens C.J., Williams R.J., Fierer N., Klironomos J. Plant diversity pre-dicts beta but not alpha diversity of soil microbes across grasslands worldwide. *Ecol. Lett.*, 2015, 18(1): 85–95. doi:10.1111/ele.12381.
- Raghukumar S. *The role of fungi in marine detrital processes*. In: *Marine microbiology: Facets and opportunities*. Ed. N. Ramaiah, India: Natl. Inst. of Oceanography, 2004, pp. 91–101.
- Richards T.A., Bass D. Molecular screening of free-living microbial eukaryotes: diversity and distribution using a meta-analysis. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2005, 8(3): 240–252. doi:10.1016/j.mib.2005.04.010.
- Rosling A., Cox F., Cruz-Martinez K., Ihrmark K., Grelet, G.-A., Lindahl B. D., Menkis A., James T. Y. Archaeorhizomycetes: Unearthing an ancient class of ubiquitous soil fungi. *Science*, 2011, 333(6044): 876–879. doi:10.1126/science.1206958
- Schadt C.W., Martin A.P., Lipson D.A., Schmidt S.K. Seasonal dynamics of previously unknown fungal lineages in tundra soils. *Science*, 2003, 301(5638): 1359–1361.
- Shirouzu T., Uno K., Hosaka K., Hosoya T. Early-diverging wood-decaying fungi detected using three complementary sampling methods. *Mol. Phyl. Evol.*, 2016, 98: 11–20. doi:10.1016/j.ympev.2016.01.015.
- Šlapeta J., Moreira D., López-García P. The extent of protist diversity: insights from molecular ecology of freshwater eukaryotes. *Proc. R. Soc. B*, 2005, 272(1576): 2073–2081. doi:10.1098/rspb.2005.3195.
- Soumya K.S., Jimly C.J., Neil S.C., Smitha S.L., Ramya K.D., Anil Kumar P.R., Manuel Th., Rosamma Ph. Filamentous fungal isolates from the continental shelf and slope sediments of Arabian Sea. *Int. J. Res. Mar. Sci.*, 2013, 2(1): 26–32.
- Suh S.-O., McHugh J.V., Pollock D.D., Blackwell M. The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts. *Mycol. Res.*, 2005, 109(3): 261–265. doi:10.1017/S0953756205002388.
- Taberlet P., Prud'Homme S.M., Campione E., Roy J., Miquel C., Shehzad W., Gielly L., Rioux D., Choler P., Clément J.-C., Melodelima C., Pompanon F., Coissac E. Soil sampling and isolation of extracellular DNA from large amount of starting material suitable for metabarcoding studies. *Mol. Ecol.*, 2012, 21(8): 1816–1820. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05317.x.
- Takishita K., Tsuchiya M., Reimer J.D., Maruyama T. Molecular evidence demonstrating the basidiomycetous fungus *Cryptococcus curvatus* is the dominant microbial eukaryote in sediment at the Kuroshima Knoll methane seep. *Extremophiles*, 2006, 10(2): 165–169. doi:10.1007/s00792-005-0495-7.
- Thomsen Ph.F., Kielgast J., Iversen L.L., Wiuf C., Rasmussen M., Gilbert M.Th.P., Orlando L., Willerslev E. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Mol. Ecol.*, 2011, 21(11): 2565–2573. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05418.x.
- Thomsen Ph.F., Kielgast J., Iversen L.L., Møller P.R., Rasmussen M., Willerslev E. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *PLoS ONE*, 2012, 7(8), e41732. doi:10.1371/journal.pone.0041732.
- Thomsen Ph.F., Willerslev E. Environmental DNA – An emerging tool conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol. Conserv.*, 2015, 183: 4–18. doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019
- Vandenkoornhuyse P., Baldauf S.L., Leyval C., Straczek J., Young J.P.W. Extensive fungal diversity in plant roots. *Science*, 2002, 295(5562): 2051.
- Vincent J.B., Weiblen G.D., May G. Host associations and beta diversity of fungal endophyte communities in New Guinea rainforest trees. *Mol. Ecol.*, 2016, 25(3): 825–841. doi:10.1111/mec.13510.
- Willerslev E., Hansen A.J., Binladen J., Brand T.B., Gilbert M.Th.P., Shapiro B., Bunce M., Wiuf C., Gilichinsky D.A., Cooper A. Diverse plant and animal genetic records from Holocene and Pleistocene sediments. *Science*, 2003, 300(5620): 791–795. doi:10.1126/science.1084114.
- Willerslev E., Hansen A.J., Rønn R., Brand T.B., Barnes I., Wiuf C., Gilichinsky D.A., Mitchell D., Cooper A. Long-term persistence of bacterial DNA. *Curr. Biol.*, 2004, 14(1): R9–R10.
- Willerslev E., Cappellini E., Boomsma W., Nielsen R., Hebsgaard M.B., Brand T.B., Hofreiter M., Bunce M., Poinar H.N., Dahl-Jensen D., Johnsen S., Steffensen J.P., Bennike O., Schwenninger J.-L., Nathan R., Armitage S., Hoog C.-J. de, Alfimov V., Christl M., Beer J., Muscheler R., Barker J., Sharp M., Penkman K.E.H., Haile J., Taberlet P., Gilbert M.Th.P., Casoli A., Campani E., Collins M.J. Ancient biomolecules from deep ice cores reveal a forested southern Greenland. *Science*, 2007, 317(5834): 111–114. doi:10.1126/science.1141758.

Рекомендує до друку
В.П. Гайова

Надійшла 25.05.2016

Помогайбо В.М., Макаренко Я.М. ДНК з навколишнього середовища як інструмент екологічного моніторингу грибних угруповань. Укр. бот. журн., 2017, 74(5): 442–448.

Полтавський національний педагогічний університет ім. В.Г. Короленка
вул. Остроградського, 2, Полтава 36000, Україна

Подано огляд літературних джерел, які висвітлюють результати вивчення угруповань грибів за допомогою технологій аналізу ДНК з навколишнього середовища. Показано, що у більшості випадків вони є частиною більш широких досліджень еваріотичного біорізноманіття. Роботи, присвячені eDNA-аналізу грибів, є поки що нечисленними. Однак уже ці перші дослідження виявили значну кількість нових таксонів грибів у різних екосистемах. Вони також свідчать про те, що у природі існує значно більше видів грибів, ніж описано за допомогою традиційних методів досліджень. Використання сучасних методів аналізу eDNA суттєво збагачує наші уявлення про видове різноманіття та еволюцію грибів.

Ключові слова: гриби, ДНК навколишнього середовища, eDNA, біорізноманіття грибів, еволюція

Помогайбо В.М., Макаренко Я.Н. ДНК из окружающей среды как инструмент экологического мониторинга грибных сообществ. Укр. бот. журн., 2017, 74(5): 442–448.

Полтавский национальный педагогический университет им. В.Г. Короленко
ул. Остроградского, 2, Полтава 36000, Украина

Представлен обзор литературных источников, которые освещают результаты изучения сообществ грибов с помощью технологий анализа ДНК из окружающей среды. Показано, что в большинстве случаев они являются частью более широких исследований биоразнообразия эукариотов. Работы, посвященные eDNA-анализу грибов, пока немногочисленны. Однако уже эти первые исследования выявили большое количество новых таксонов грибов в различных экосистемах. Они также свидетельствуют о том, что в природе существует значительно больше видов грибов, чем описано с помощью традиционных методов исследований. Использование современных методов анализа eDNA существенно обогащает наши представления о биоразнообразии и эволюции грибов.

Ключевые слова: грибы, ДНК окружающей среды, eDNA, биоразнообразии грибов, эволюция