

УДК 579.26

**ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТА *METARHIZIUM* SP. MBB****С.В. Сокорнова<sup>1</sup>, О.Н. Ярославцева<sup>2</sup>, А.В. Александрова<sup>3</sup>, Г.Р. Леднёв<sup>1</sup>, Б.А. Борисов<sup>4,5</sup>**<sup>1</sup>Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, тутрык@gmail.com<sup>2</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия<sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия<sup>4</sup>Производственно-научная компания «АгроБиоТехнология», Москва, Россия<sup>5</sup>Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

По морфолого-культуральным признакам изолят *Metarhizium sp* MBB не мог быть однозначно отнесен к какому-либо виду. Сравнение нуклеотидных последовательностей фактора элонгации трансляции и гена бета-тубулина изолята *Metarhizium sp* MBB с референсными последовательностями Генбанка показало сходство 98% с последовательностями штамма *M. pemphigi*. Наиболее близкородственными изолятами по локусу гена бета-тубулин (99.8% сходства на участке 608 н.п.) были *Metarhizium sp* CBS 64867, Hkd35-2 и F1099-1, чье пространственное распространение ограничивается лесными экотипами, что характерно для *M. pemphigi*. Таким образом, изолят идентифицирован, как *M. pemphigi*, что подтверждается морфологическими и экологическими критериями.

**Ключевые слова:** *Metarhizium*, энтомопатогенные микромицеты, идентификация, экологические критерии.

Энтомопатогенные сумчатые анаморфные грибы рода *Metarhizium* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae) издавна, начиная с пионерских исследований Мечникова и Красильщика, изучают во многих странах как потенциальных агентов биологического контроля насекомых [Faria, Wraight, 2007]. Исследования, проведенные в последние десятилетия на основе современных молекулярно-генетических методов, с привлечением множества штаммов из различных насекомых-хозяев и природно-климатических зон мира, убедительно показывают, что за прежними видовыми названиями в действительности скрываются комплексы трудно различимых по морфолого-культуральным признакам близкородственных видов, имеющих порой определенную трофическую и топическую специализацию. Так, дроблению на несколько самостоятельных видов подвергся типовой вид *M. anisopliae* (Metsch.) Sorokin 1883; а также *M. flavoviride* W.Gams et Rozsypal 1973 [Driver et al., 2000; Bishoff et al., 2009; Kepler et al., 2014; Steinwender et al., 2014]. Поэтому в настоящее время «классические» названия можно использовать лишь в первом приближении в смысле «*sensu lato*».

В 2014 г. при изучении почвенной лесной микобиоты Государственного природного заказника «Звенигородская

биостанция МГУ и карьер Сима» (Московская обл., Одинцовский район) в рассевах одного из образцов на агаризированную питательную среду Чапека в чашках Петри выросли единичные колонии зеленоватого цвета; этот изолят по морфолого-культуральным характеристикам был идентифицирован как *M. anisopliae* s. l. Он был передан для изучения биотехнологических свойств (особенностей развития на различных субстратах при твердофазном и глубинном культивировании при разных температурах и др.) в Коллекцию микроорганизмов – потенциальных продуцентов биопестицидов ООО «АгроБиоТехнология», где культуре было присвоено название S-MR(Z)14, а затем – в Коллекцию чистых культур лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии ВИЗР; где изолят получил акроним МББ.

На агаризированной питательной среде Сабуро изолят образовывал светло-зеленые слабо порошачие колонии с конидиями овальной формы размером в среднем 5.5×2.5 мкм, по которым гриб можно отнести также к виду *M. pemphigi* Kepler, S.A. Rehner et Humber (Driver et R.J. Milner) (раннее *M. flavoviride* var. *pemphigum* Driver et Milner [Driver et al., 2000]) [Kepler et al., 2014].

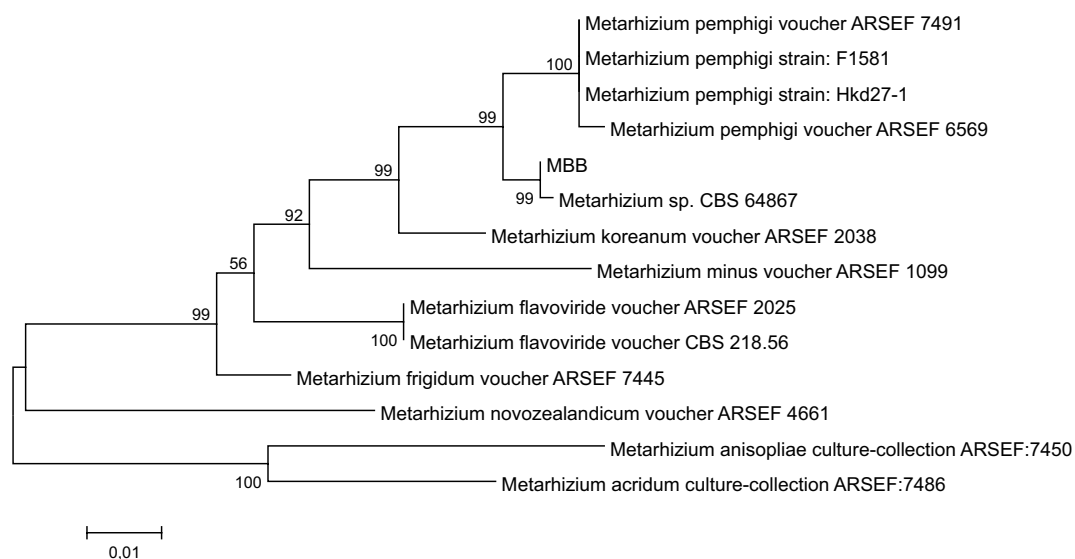


Рисунок. Филогенетическое положение исследуемого изолята МББ *Metarhizium sp*. Филограмма построена по локусу гена бета-тубулин (600 н.п.) методом максимального правдоподобия с бутстрап поддержкой

Интересно отметить, что штаммы, идентифицированные по локусу гена фактора элонгации трансляции [Nishi et al., 2011], как *M. pemphigi* (= *M. flavoviride* var. *pemphigi*) оказались одинакового происхождения, все они были выделены из почв лесных экосистем [Rocha et al., 2013]. Кроме того, их конидии способны к прорастанию при пониженных температурах (+10 °C) [Nishi et al., 2013]. По результатам молекулярного анализа локусов генов фактора элонгации трансляции и бета-тубулина длиной 678 и 608 н.п., а также референсным последовательностям из базы данных Генбанка методом ближайших соседей было построено филогенетическое дерево, одно из которых представлено на рисунке.

Максимальное сходство последовательностей по указанным локусам наблюдается, действительно, со штаммами *M. pemphigi* (= *M. flavoviride* var. *pemphigi*) и составляет более 98%. Следовательно, изолят *Metarhizium* sp MBB может быть отнесен к этому виду. В базе данных Генбанк также представлены 4 последовательности гена бета-тубулина изолятов *Metarhizium* sp. CBS 64867, Hkd35-2 и F1099-1, имеющие сходство с полученной последовательностью 99.8%. Важно отметить происхождение этих изолятов – они были выявлены в лесных почвах. Таким образом, идентификация изолята, как *M. pemphigi*, подтверждается также экологическими критериями.

Работа частично выполнена на базе ресурсного центра Хромас СПбГУ.

#### Библиографический список (References)

- Bishoff J.F., Rehner S.A., Humber R.A. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage // *Mycologia*, 2009. V.101. N 4. P. 512–530.
- Driver F., Milner R.J., Trueman J.W.H. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data // *Mycol. Res.*, 2000. V. 104. N 2. P. 134–150.
- Faria M.R.de, Wraight S.P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types // *Biol. Control.*, 2007. V. 43. P.237–256.
- Kepler R.M., Humber R.A., Rehner S.A. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics // *Mycologia*, 2014. V. 106. N 4. P. 811–829.
- Nishi O., Hasegawa K., Iiyama K., Yasunaga-Aoki C., Shimizu S. Phylogenetic analysis of *Metarhizium* spp. isolated from soil in Japan // *Appl. Entomol. Zool.*, 2011. V. 46. P. 301–309.
- Nishi O., Iiyama K., Yasunaga-Aoki C., Shimizu S. Comparison of the germination rates of *Metarhizium* spp. conidia from Japan at high and low temperatures // *Lett. Appl. Microbiol.*, 2013. V. 57 N 6. P.554–60.
- Rocha L.F.N., Inglis P.W., Humber R.A., Kipnis A., Luz Ch. Occurrence of *Metarhizium* spp. in Central Brazilian soils // *J. Basic Microbiol.*, 2013. V. 53. P.251–259.
- Steinwender B.M., Enkerli J., Widmer F., Eilenberg J., Thorup-Kristensen K., Meyling N.V. Molecular diversity of the entomopathogenic fungal *Metarhizium* community within an agroecosystem // *J. Invertebr. Pathol.*, 2014. V.123. P.6–12.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 155–156

### ECOLOGY-GENETIC CHARACTERISTICS OF *METARHIZIUM* SP. ISOLATE MMB

S.V. Sokornova<sup>1</sup>, O.N. Yaroslavtseva<sup>2</sup>, A.V. Aleksandrova<sup>3</sup>, G.R. Lednev<sup>1</sup>, B.A. Borisov<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Protection, [mymryk@gmail.com](mailto:mymryk@gmail.com)

<sup>2</sup>Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS

<sup>3</sup>Lomonosov Moscow State University

<sup>4</sup>AgroBioTechnology Ltd

<sup>5</sup>Center of Parasitology, Severtsov Institute of Ecology and Evolution

Morphology and cultural characteristics it is not well suited for individual isolate identification of *Metarhizium* sp MBB. Phylogenetic analyses of the beta-tubulin and translation elongation factor-1 alpha sequences revealed that these isolate are closely related to *M. pemphigi*, that confirmed by morphology and environmental criteria.