

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Бондаренко София Андреевна

**АЛКАЛОФИЛЬНЫЕ И АЛКАЛОТОЛЕРАНТНЫЕ ГРИБЫ:
РАЗНООБРАЗИЕ, ОСОБЕННОСТИ ЭКОФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ**

03.02.12 – Микология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2018

Работа выполнена на кафедре микологии и альгологии
Биологического факультета Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель:

Биланенко Елена Николаевна

*кандидат биологических наук, старший научный
сотрудник кафедры микологии и альгологии
биологического ф-та МГУ имени М.В. Ломоносова*

Официальные оппоненты:

Балнокин Юрий Владимирович

*доктор биологических наук, профессор,
ведущий научный сотрудник ФГБУН
«Институт физиологии растений
имени К.А. Тимирязева» РАН*

Терехова Вера Александровна

*доктор биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник
лаборатории экологического почвоведения
факультета почвоведения
МГУ имени М.В. Ломоносова*

Антропова Анна Борисовна

*кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник ФГБНУ
«Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»*

Защита диссертации состоится «06» декабря 2018 г. в 15 ч. 30 мин.
на заседании диссертационного совета МГУ.03.03 Московского
Государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234,
Москва, Ленинские горы, МГУ, дом 1, стр. 12, Биологический факультет, ауд.
М1, тел. 8(495)939-11-48. E-mail: dissovet_00155@mail.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в отделе диссертаций
научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп.,
д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <http://istina.msu.ru/dissertations/150560451>

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Д.М. Гершкович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Грибы известны как основная группа деструкторов, обладающая широкой физиологической пластичностью и высоким адаптационным потенциалом к различным абиотическим факторам. Большинство культивируемых видов для роста и развития предпочитают кислые условия. Если алкалофильные и алкалотолерантные прокариоты исследованы достаточно хорошо (Заварзин, 2006; Jones et al., 1998; Sorokin et al., 2014), то изучение грибов, устойчивых к высоким значениям pH, началось сравнительно недавно. Большой вклад в развитие этой темы внес ряд отечественных исследований микромицетов содовых озёр и солончаков Кулундинской степи, Забайкалья, пустыни Гоби, Танзании (Биланенко, Георгиева, 2005; Георгиева, 2006; Георгиева и др., 2008; Биланенко и др., 2011; Георгиева и др., 2012а, 2012б; Grum-Grzhimaylo et al., 2013а, 2013b, 2016). Авторами была разработана комплексная методика выделения и идентификации функционального звена сообществ щелочных местообитаний, впервые было доказано явление облигатной алкалофилии у грибов (Grum-Grzhimaylo et al., 2013а, 2016). Проведенное масштабное исследование поставило новые вопросы о разнообразии, распространении и роли алкалофильных и алкалотолерантных грибов как в стабильно щелочных местообитаниях (изучена лишь небольшая их доля), так и в местообитаниях (засолённых и незасолённых), где защелачивание может возникать локально. Актуальным остается и вопрос о механизмах адаптации щёлочеустойчивых грибов к высоким значениям pH. В литературе такие данные отрывочны, все исследования проводятся на алкалотолерантах, но не на алкалофилах (Sanders, Slayman, 1982; Denison, 2000; Hesse et al., 2002; Caracuel et al., 2003; Benito et al., 2009). Нет информации о роли изменений состава растворимых углеводов цитозоля и мембранных липидов в приспособлении к внешнему pH, хотя эти механизмы адаптации известны как одни из важнейших при действии многих других факторов стресса.

Цели и задачи исследования

Целью работы стало изучение разнообразия, особенностей экофизиологии и механизмов адаптации алкалофильных и алкалотолерантных грибов, изолированных из почв с разными значениями pH и различными типами засоления. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Выделить щёлочеустойчивые грибы из стабильно щелочных почв содового озера Магади (Кения); нейтральных гиперсолёных почв озера Баскунчак (Россия); кислых дерново-подзолистых и нейтральных окультуренных почв средней полосы России;
2. Изучить таксономическое разнообразие и провести филогенетический анализ выделенных грибов;
3. Определить характер адаптации изолятов к высоким значениям pH и другим абиотическим факторам (температуре, солёности);
4. Исследовать динамику растворимых углеводов цитозоля алкалофильных и алкалотолерантных грибов в ответ на изменение внешнего pH;
5. Изучить динамику мембранных и запасных липидов алкалофильных и алкалотолерантных грибов в ответ на изменение внешнего pH.

Научная новизна

В работе впервые даётся оценка функционального разнообразия грибов одного из самых экстремальных местообитаний на Земле – содового озера Магади в Кении. Описаны два новых облигатно алкалофильных вида грибов, обитающих на побережье озера: *Sodiomyces tronii* Bondarenko, Grum-Grzhim., Debets & Bilanenko и *Sodiomyces magadii* Bondarenko, Grum-Grzhim., Debets & Bilanenko. Впервые показано присутствие алкалофильных грибов в нейтральных почвах хлоридного засоления (оз. Баскунчак) – как факультативных, так и облигатных (*Sodiomyces* sp. nov.) алкалофилов. Впервые охарактеризовано алкалотолерантное сообщество микромицетов кислых и нейтральных почв. Впервые показано принципиальное различие в механизмах адаптации алкалофильных и алкалотолерантных грибов к внешнему pH. Для алкалофилов ключевым осмолитом на всех стадиях роста и при различных значениях pH является трегалоза, а у алкалотолерантов – маннит и арабит. Впервые у облигатного алкалофила *S. tronii* обнаружено доминирование небислойных фосфолипидов, фосфатидных кислот, в составе мембранных липидов в активной фазе роста и рост долей стеринов и сфинголипидов при снижении pH, что указывает на образование рафтов в мембранах.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение щёлочеустойчивых грибов имеет большую фундаментальную значимость, поскольку расширяет наше представление о происхождении, эволюции и механизмах алкалофилии и алкалотолерантности у эукариот.

Практическая ценность состоит в возможности использования алкалофильных и алкалотолерантных грибов как продуцентов новых уникальных метаболитов (ферментов, антимикробных соединений). Полученные в настоящей работе культуры включены в коллекцию экстремофильных грибов кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Культуры служат модельными объектами на практических занятиях по физиологии грибов на кафедре. На базе коллекции ведутся исследования щёлочеустойчивых гидролитических ферментов; совместно с ФГБНУ НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе проводится поиск новых веществ с антибиотической активностью; вместе с группой экспериментальной микологии ФИЦ Биотехнологии РАН ведутся исследования механизмов адаптации грибов к высоким значениям pH, температуры, концентрациям солей и к полистрессу.

Личный вклад соискателя

Выбор и обоснование научной тематики исследования, получение результатов, их анализ и интерпретация сделаны при решающем участии автора. Полевые сборы, работа по выделению, поддержанию и идентификации культур, все эксперименты выполнены самостоятельно автором или при его непосредственном активном участии. Автор освоил методы обработки и анализа данных, обобщил и представил полученный материал, сформулировал выводы. Опубликованные работы написаны автором лично при участии научного руководителя и коллег. Текст диссертации написан автором по плану, согласованному с научным руководителем.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Алкалофильные грибы (облигатные и факультативные) присутствуют в гиперсолёных почвах побережий озёр как содового типа засоления со стабильно щелочными условиями (оз. Магади, pH 10.7), так и хлоридного типа с близкими к нейтральному значениями pH (оз. Баскунчак, pH 7.7).
2. Алкалотолерантные грибы распространены гораздо шире, они отмечены как на побережьях содового и хлоридного озёр, так и в кислых дерново-подзолистых и окультуренных нейтральных почвах.
3. Таксономическое разнообразие и количественные показатели щёлочеустойчивых грибов невысоки. Алкалофильные и алкалотолерантные грибы отмечены исключительно среди аскомицетов, преимущественно в семействе *Plectosphaerellaceae* (*Glomerellales*, *Sordariomycetes*).

4. Опубликовано два новых облигатно алкалофильных вида *Sodiomyces magadii* и *S. tronii* из почв побережья оз. Магади, приведено описание *Sodiomyces* sp. nov. из почв побережья оз. Баскунчак. Особенности морфологии и физиологии (отношение к pH, концентрациям хлористого натрия, температуре) свидетельствуют об адаптации к росту в щелочных и солёных условиях и функциональной значимости этих видов в биотопе.
5. Ответ на изменение внешнего pH у алкалофильных и алкалотолерантных грибов различен. Трегалоза играет большую роль в ответе алкалофильных грибов на изменение внешнего pH. У алкалотолерантов защитные механизмы включают изменение соотношения двух основных осмолитов - арабита и маннита.
6. Алкалофильный гриб *S. tronii* обладает уникальным составом мембранных липидов - на ранних стадиях роста этот гриб содержит большое количество небислойных липидов (фосфатидных кислот), в кислых условиях возрастает доля стерина и сфинголипидов, что свидетельствует о формировании рафтов.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2014» (Москва, 2014); X международном конгрессе по Экстремофилам (Санкт-Петербург, 2014); Третьем Международном Микологическом Форуме (Москва, 2015); Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие и экология грибов и грибоподобных организмов Северной Евразии» (Екатеринбург, 2015); XVII Конгрессе Европейских Микологов (Funchal Madeira, Португалия, 2015); научной конференции «Ломоносовские чтения – 2016» (Москва, 2016); III Всероссийской конференции «Фундаментальная гликобиология» (Владивосток, 2016); Четвёртом съезде микологов России (Москва, 2017); XIII Международной конференции по исследованию солёных озёр (Улан-Удэ, 2017); 1-ом Российском Микробиологическом Конгрессе (Пушино, 2017); IV Всероссийской конференции «Фундаментальная гликобиология» (Киров, 2018); Ежегодной научной конференции ФИЦ Биотехнологии РАН (Москва, 2018); заседаниях кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, отражающих её основное содержание. Среди них 5 статей в рецензируемых журналах, 4 – в сборниках статей, 11 тезисов докладов.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 134 страницах, содержит 14 таблиц и 38 рисунков, а также приложения, включающие 5 таблиц. Список литературы состоит из 175 источников.

Благодарности

Я искренне благодарю своего научного руководителя к.б.н. Елену Николаевну Биланенко за помощь и поддержку на всех этапах выполнения диссертационной работы, за тот бесценный научный опыт, который был получен благодаря её участию, а также за прекрасный материал, привезенный с озера Баскунчак. Я благодарю д.б.н. Веру Михайловну Терёшину и других сотрудников группы экспериментальной микологии ФИЦ Биотехнологии РАН - Е.А. Януцевич, Н.А. Сеницыну, О.А. Данилову за плодотворное сотрудничество в изучении биохимических особенностей алкалофильных и алкалотолерантных грибов. Большое спасибо моим коллегам – А.А. Грум-Гржимайло, М.Л. Георгиевой, О.В. Камзолкиной, Л.Ю. Кокаевой, В.В. Алёшину за научные консультации и неоценимую помощь в решении сложных вопросов, Лаборатории генетики Университета Вагенинген (Нидерланды) за предоставленную возможность совместной работы. Особая благодарность Е.М. Селивановой и О.В. Провоторовой, без них не состоялась бы поездка в Кению. Спасибо О.А. Огневой за помощь в анализе почвенных образцов и регулярную дружескую поддержку. Спасибо друзьям и семье за терпение, понимание и помощь.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы проанализированы данные по возникновению и распространению щелочных условий, исследованию жизни в условиях высоких значений рН. Подробно характеризуется история изучения грибов щелочных местообитаний и приводится описание современного состояния проблемы изучения алкалофилов и алкалотолерантов. Обсуждаются механизмы адаптации грибов к экстремальным условиям, современное состояние исследований механизмов адаптации грибов к внешнему рН. В обзоре литературы отмечены перспективы дальнейшего изучения и практического использования щёлочеустойчивых грибов и их метаболитов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы

Материал собран на побережье содового озера Магади в Кении (20 образцов) в январе 2013 г., на побережье хлоридного озера Баскунчак (Астраханская область, Россия) (20 образцов) в июне 2016 г., в окрестностях Звенигородской биологической станции МГУ (10 образцов) и на территории Ботанического сада МГУ (10 образцов) в июне 2013 г. Отбирали верхний слой почвы (0–5 см), для каждого образца измеряли pH в лабораторных условиях.

Среды выделения и культивирования микромицетов

Для селективного выделения и культивирования щёлочеустойчивых грибов использовали щелочной агар на основе суслы и карбонатно-бикарбонатного буфера (ЩА; pH 10.2). Рост бактерий на ЩА ингибировали рифампицином (2 г/л) (Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Для выявления более полного разнообразия грибов побережья оз. Магади использовали дополнительно стандартную среду сусло-агар (СА; pH 6.5).

Методы выделения, культивирования и хранения микромицетов

Для выделения микромицетов из почв содового и хлоридного засоления наиболее эффективен был метод почвенных комочков, из дерново-подзолистых и окультуренных почв - метод серийных разведений. Для каждого вида определяли частоту встречаемости и число КОЕ на 1 грамм почвы. Для всех изолятов получены моноспоровые культуры, которые хранятся в коллекции грибов экстремальных местообитаний кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ, часть изолятов депонирована во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов (Пушино, Россия) и CBS (Утрехт, Нидерланды).

Идентификация изолятов по морфолого-культуральным признакам

Микроморфологию исследовали при помощи светового, электронного сканирующего и низкотемпературного сканирующего микроскопов. Для идентификации микромицетов использовали определители и современные статьи по таксономии грибов. Названия и систематическое положение грибов приведены в соответствии с базой CABI Bioscience Databases (<http://www.indexfungorum.org>).

Идентификация изолятов молекулярными методами

Для идентификации изолятов анализировали последовательности различных генетических локусов: ITS, LSU, Act, β -tub, CMD, GAPDH, RPB2, TEF1. Видовую принадлежность определяли с помощью программы BLAST (GeneBank) и

филогенетических построений для отдельных изолятов методами Байесовского анализа и максимального правдоподобия.

Исследование особенностей физиологии изолятов

Для определения характера адаптации к щелочным условиям измеряли скорость линейного роста грибов в трубках со средой с разными значениями pH, которые поддерживали за счет буферных компонентов: цитратного (pH 4, 5), фосфатного (pH 7) и карбонатно-бикарбонатного (pH 9, 10) буферов (Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Скорость роста определяли в широком диапазоне температур (15-50 °C) и концентраций хлорида натрия в среде (0-2 М); опыты проводили на чашках Петри при оптимальных значениях pH. Опыты по физиологии проведены в двух или трех повторностях.

Исследование растворимых углеводов цитозоля, мембранных и запасных липидов

Для модельных алкалофильных и алкалотолерантных культур были определены оптимальные для развития значения pH, температуры и концентрации NaCl, динамика роста и спорообразования. В процессе опытов грибы выращивали на агаризованных средах на чашках Петри с целлофановыми дисками. pH среды поддерживали при помощи буферных компонентов, как указано выше. Липиды и углеводы анализировали, как было описано ранее (Януцевич и др., 2016). Опыты проводили в трехкратной биологической повторности.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Грибы содовой почвы побережья озера Магади (Кения)

Характеристика образцов почвы и количественная оценка грибов

В местах сбора материала почва характеризуется крайней степенью защелачивания – значения pH в среднем составляют 10.7 ± 0.1 . Грибы были обнаружены только в 16 из 20 образцов почвы. В 1 г сухой почвы в среднем отмечено около 120 колониобразующих единиц (КОЕ), из них на ЩА лишь 1 КОЕ/г. Встречаемость каждого из видов не превысила 5-10 %.

Таксономическое разнообразие микромицетов

На ЩА выделено 7 видов микромицетов. Все они относятся к отделу *Ascomycota* (табл. 1). Впервые описаны и опубликованы (Grum-Grzhimaylo et al., 2016) два новых вида ранее монотипного облигатно алкалофильного рода *Sodiomyces* – *S. tronii* и *S. magadii* (рис. 1, 4).

Таблица 1. Видовой состав и встречаемость (%) микромицетов в содовой почве побережья озера Магади (1), хлоридной почве озера Баскунчак (2), дерново-подзолистой (3) и окультуренной (4) почвах средней полосы России

ASCOMYCOTA		1	2	3	4
Dothideomycetes					
Capnodiales, Cladosporiaceae					
	<i>Cladosporium</i> sp.		5		
Pleosporales, Pleosporaceae					
	<i>Alternaria</i> sect. <i>Alternata</i>		30		
	<i>Alternaria chlamydospora</i>		20		
	<i>Alternaria</i> sp.		5		
	<i>Pleosporales</i> sp.	5	5		
Eurotiomycetes					
Eurotiales, Trichocomaceae					
	<i>Aspergillus sclerotiorum</i>		15		
	<i>Aspergillus</i> sect. <i>Flavipedes</i>		5		
	<i>Aspergillus ustus</i>	5			
Onygenales, Onygenaceae					
	<i>Chrysosporium lobatum</i>	5	5		
Sordariomycetes					
Hypocreales, Incertae sedis					
	<i>Acremonium sclerotigenum</i>		5		
	<i>Emericellopsis</i> spp.		40		
	<i>Hypocreales</i> sp.			20	
	<i>Sarocladium strictum</i>			60	
	<i>Sarocladium kiliense</i>		15		
Hypocreales, Bionectriaceae					
	<i>Hydropisphaera</i> sp.			30	
Hypocreales, Nectriaceae					
	<i>Fusarium sporotrichioides</i>			40	
Microascales, Microascaceae					
	<i>Microascus alveolaris</i>		10		
Glomerellales, Plectosphaerellaceae					
	<i>Acrostalagmus luteoalbus</i>			70	90
	<i>Chordomyces antarcticus</i>			60	
	<i>Gibellulopsis nigrescens</i>	10		90	100
	<i>Plectosphaerella</i> sp.1				90
	<i>Plectosphaerella</i> sp.2			50	
	<i>Sodiomyces tronii</i> sp. nov.	10			
	<i>Sodiomyces magadii</i> sp. nov.	5			
	<i>Sodiomyces</i> sp. nov.		25		
Sordariales, Chaetomiaceae					
	<i>Chaetomium murorum</i>		15		
INSERTAE SEDIS					
	<i>Mycelia sterilia</i>	5	60		

На СА выделены грибы не только из *Ascomycota* (представители *Trichocomaceae*, *Cladosporiaceae*, *Pleosporales*), но и *Basidiomycota* (практически все стерильные изоляты).

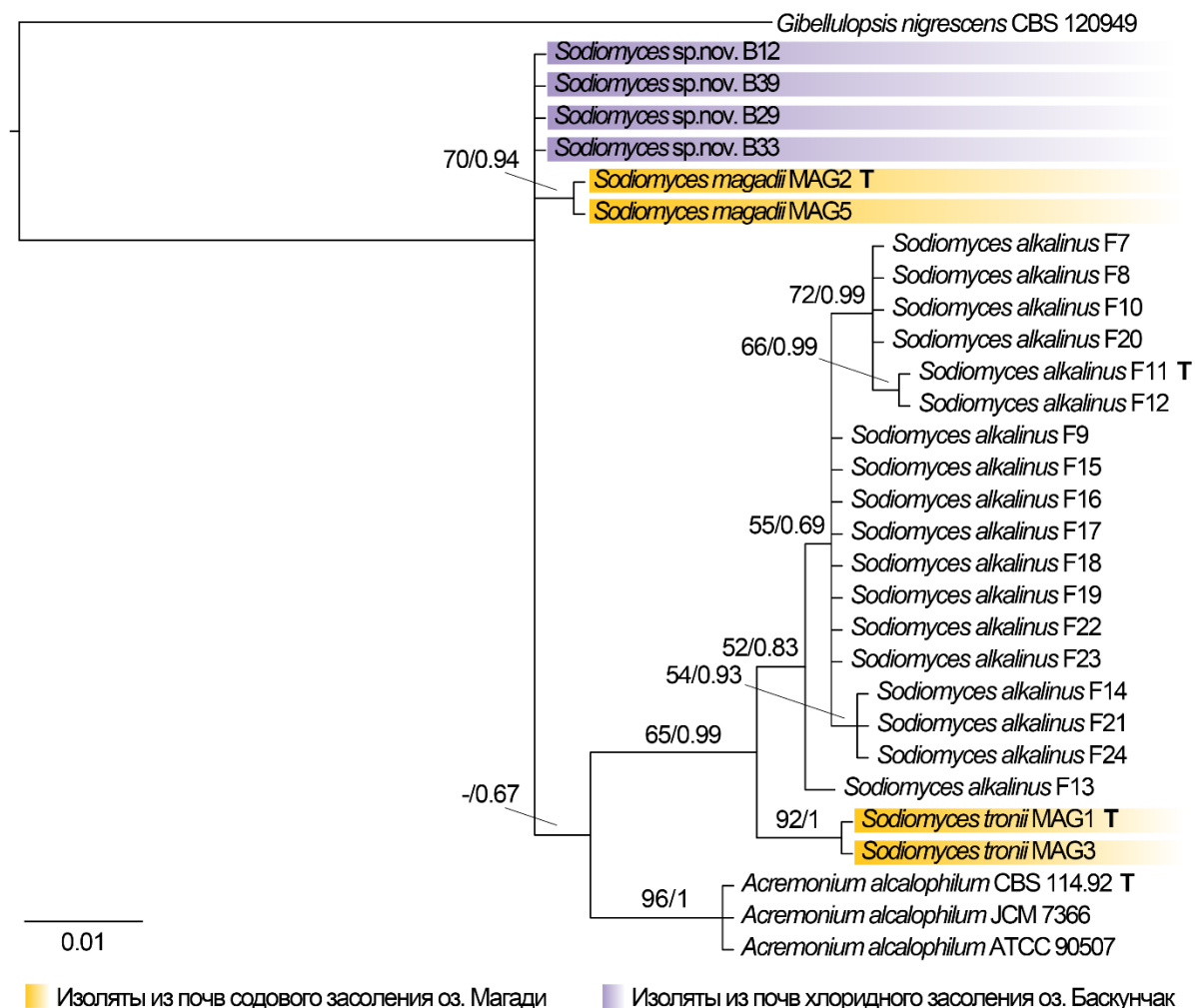


Рис. 1. Филогенетическое положение новых видов внутри рода *Sodiomyces*. Байесовское консенсусное дерево (50 % majority rule), основанное на анализе последовательности ITS локуса. Т – типовые изоляты.

Особенности физиологии изолятов

Отношение к фактору pH. В содовой почве побережья оз. Магади присутствуют грибы с разными типами адаптации к фактору pH (рис. 2). Изоляты новых видов рода *Sodiomyces* отнесены к облигатным алкалофилам, они обладают выраженным оптимумом роста в щелочной области и не развиваются при pH ниже 5.0 - 5.5. В содовой почве отмечены и факультативные алкалофилы (*Chrysosporium lobatum*), сильные (*Gibellulopsis nigrescens*) и умеренные (*Aspergillus ustus*, *Pleosporales* sp.) алкалотолеранты. Среди изолятов, выделенных на СА, присутствуют лишь слабые алкалотолеранты и грибы, неспособные к росту при

щелочных значениях pH среды, их зачатки сохраняют жизнеспособность в содовой почве.

Отношение к температуре. Исследование роста двух новых видов *S. magadii* и *S. tronii* в широком диапазоне температур показало, что они относятся к термотолерантам, обладают повышенным температурным оптимумом и способны развиваться в более широком диапазоне температур (до 40 °C включительно) по сравнению с изолятами *S. alkalinus* из содовых местообитаний различных регионов России, Монголии, Танзании.

Отношение к NaCl. *S. magadii* и *S. tronii* лучше развиваются на среде без добавления NaCl, но могут расти при концентрациях до 2 М, что позволяет отнести их к галотолерантам.

Грибы хлоридных почв побережья озера Баскунчак

Характеристика образцов почвы и количественная оценка грибов

Отобранные образцы почвы характеризуется околонеутральными значениями pH – в среднем 7.7 ± 0.1 . 7 из 20 исследованных образцов прибрежных почв оз. Баскунчак не содержали грибных зачатков. В 1 г сухой почвы в среднем отмечено 19 КОЕ. Встречаемость отдельных видов на ЩА не превышает 40 %.

Таксономическое разнообразие щелочеустойчивых микромицетов

На ЩА из гиперсолёных почв оз. Баскунчак выделено 17 видов грибов и 15 неидентифицированных стерильных мицелиев (как светло-, так и темноокрашенных). Все они обладают аскомицетным аффинитетом (табл. 1). На побережье хлоридного оз. Баскунчак обнаружен новый голоморфный облигатно алкалофильный вид рода *Sodiomyces*, приведено его описание.

Особенности физиологии изолятов

Отношение к фактору pH. Ростовые эксперименты в широком диапазоне pH (рис. 2) подтвердили присутствие в почвах нейтрального засоления как облигатных (*Sodiomyces* sp. nov.) (рис. 1), так и факультативных (*Emericellopsis* spp., *Sarocladium kiliense*) алкалофилов. В почве отмечены и алкалотолеранты (например, *Acremonium sclerotigenum*, *Alternaria chlamydospora*, *Aspergillus* sect. *Flavipedes*, *Microascus alveolaris*).

Отношение к NaCl. Для *Sodiomyces* sp. nov. и *Emericellopsis* sp. изучена зависимость скорости роста от концентрации NaCl в среде. Все изоляты отнесены к галотолерантам. Облигатный алкалофил *Sodiomyces* sp. nov. предпочитает расти

на среде без добавления NaCl и сохраняет рост (хотя и очень слабый) при 2 М концентрации NaCl в среде. Факультативный алкалофил *Emericellopsis* sp. лучше растет при концентрации NaCl в среде 0.4 М, незначительно снижает скорость роста на среде с 2 М NaCl.

Грибы дерново-подзолистой и окультуренной почв средней полосы России

Характеристика образцов почвы и количественная оценка грибов

Образцы дерново-подзолистой почвы в окрестностях Звенигородской биологической станции МГУ характеризуются кислыми значениями pH, в среднем 4.9 ± 0.26 . Значения pH окультуренной почвы Ботанического сада МГУ в среднем составляют 7.0 ± 0.47 . По данным посевов на ЩА, в образцах кислой и околонеutralной почвы содержится в среднем около 10^4 КОЕ/г щёлочеустойчивых грибов. Встречаемость отдельных видов достигает 90–100 %.

Таксономическое разнообразие щёлочеустойчивых микромицетов

На ЩА выделено 9 видов микромицетов – 8 из образцов дерново-подзолистой почвы, 3 – из образцов окультуренной почвы. Все изоляты относятся к *Sordariomycetes* (Ascomycota) (табл.1).

Особенности физиологии изолятов

Отношение к фактору pH. Все изоляты отнесены к алкалотолерантам (рис. 2). Подавляющее большинство – сильные алкалотолеранты, способные к росту в широком диапазоне значений pH среды.

Роль растворимых углеводов цитозоля, мембранных и запасных липидов в адаптации алкалофильных и алкалотолерантных грибов к внешнему pH

Исследован состав углеводов и липидов трех алкалофильных и двух алкалотолерантных грибов из семейства *Plectosphaerellaceae*. Для анализа влияния pH грибы культивировали на средах с разными значениями pH до середины стадии трофофазы. Для алкалофильного гриба *S. tronii* изучен состав углеводов и липидов также и в динамике роста в оптимальных условиях.

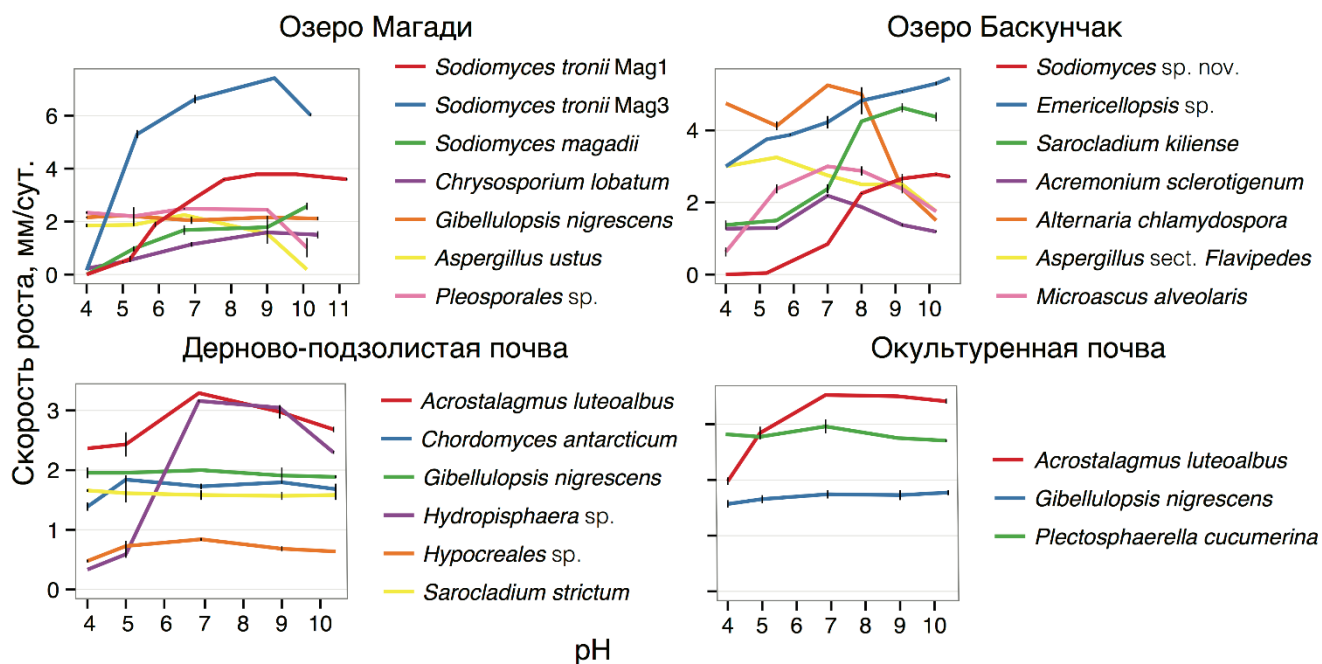


Рис. 2. Зависимость скорости линейного роста грибов, выделенных на ЩА из разных типов почв, от значений pH среды.

Алкалофильные грибы

S. tronii. В оптимальных условиях (pH 9.2, 32 °C) у *S. tronii* на всех стадиях роста доминируют трегалоза и глюкоза (рис. 3). С возрастом количество трегалозы возрастает - до 10% от сухой массы на 17 сутки роста. Повышение pH среды ведет к увеличению количества маннита (до 8% от сухой массы), возрастанию доли арабита. Количество трегалозы изменяется незначительно на фоне падения уровня глюкозы. В кислых условиях трегалоза становится доминирующим углеводом (до 80% от суммы сахаров) на фоне резкого снижения содержания остальных сахаров.

В составе мембранных липидов *S. tronii* в оптимальных условиях роста доминируют фосфатидилэтаноламины (ФЭ), фосфатидилхолины (ФХ), стерины. Особенностью гриба является высокая доля фосфатидных кислот (ФК) на стадии трофофазы. С возрастом относительное содержание этих соединений резко падает на фоне возрастания доли стерина. Состав мембранных липидов практически не меняется при увеличении pH, в кислых условиях значительно возрастает доля сфинголипидов и стерина. Основные жирные кислоты всех фосфолипидов у *S. tronii* - линоленовая (C18:2), олеиновая (C18:1) и пальмитиновая (C16:0). В процессе культивирования повышается степень ненасыщенности жирных кислот в ФХ и ФЭ и снижается в ФК. При изменении pH среды культивирования жирнокислотный состав основных фосфолипидов практически не изменяется.

Запасные липиды гриба представлены триацилглицеридами (ТАГ), диацилглицеридами (ДАГ) и свободными жирными кислотами (СЖК). В кислых и нейтральных условиях количество ацилсодержащих липидов резко повышается в 1.5-2.0 раза, в основном за счет ТАГ.

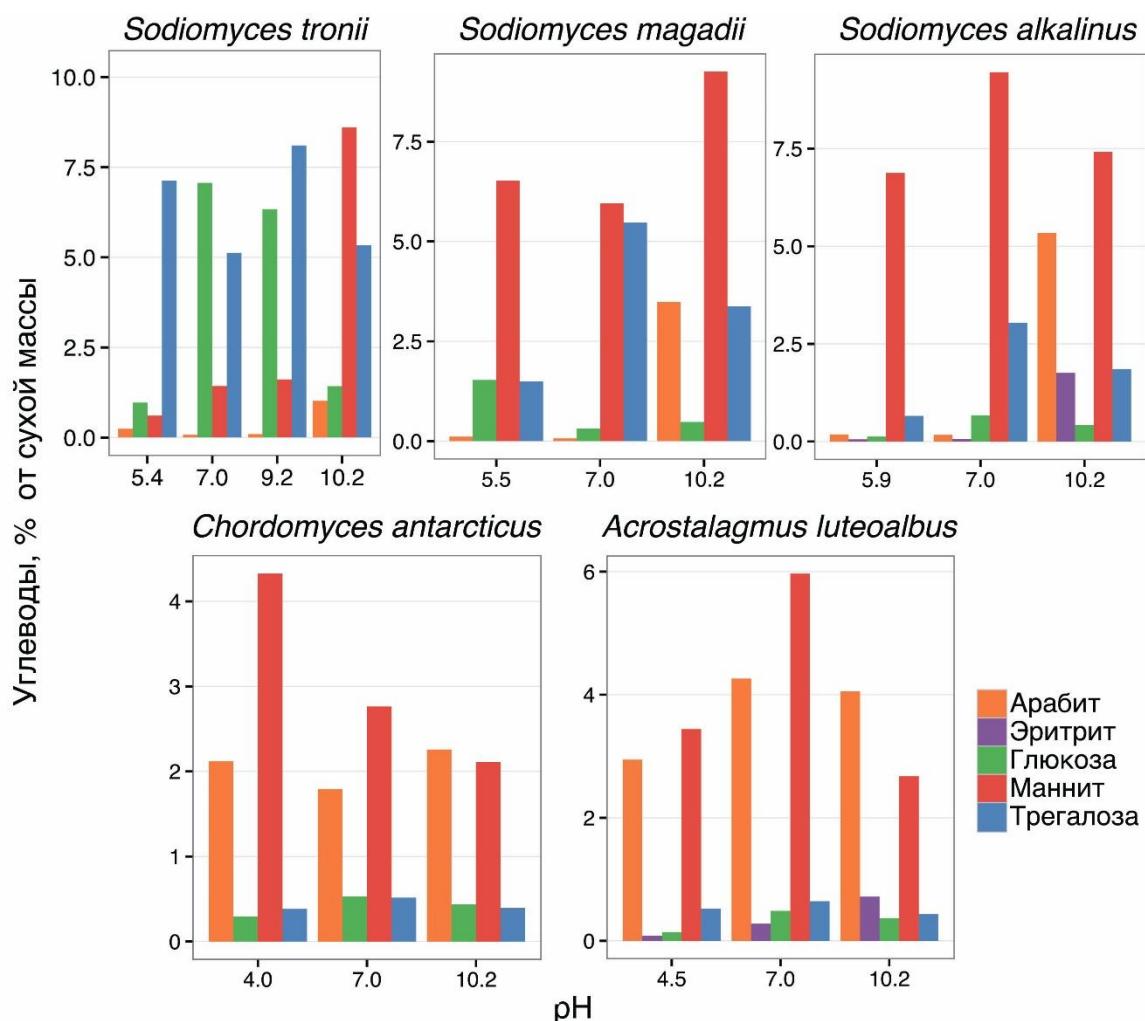


Рис. 3. Растворимые углеводы цитозоля алкалофильных (верхний ряд) и алкалотолерантных (нижний ряд) грибов в условиях разных значений pH среды культивирования.

S. magadii. В оптимальных условиях (pH 10.2) растворимые сахара представлены, в основном, маннитом, трегалозой и арабитом (рис. 3). При снижении pH значительно снижается общее количество углеводов за счет падения уровня маннита и, особенно, арабита (до следового количества). Доля трегалозы увеличивается в нейтральных условиях до 45% от суммы сахаров, а затем снижается более, чем в два раза.

Общее количество липидов в оптимальных условиях составляет около 4% от сухой массы, и в кислых условиях увеличивается на 40%. В мембранных липидах в оптимальных условиях доминируют ФЭ, ФХ и стерин (Ст). Снижение pH среды

до нейтральных (7.0) и кислых (5.5) значений приводит к повышению доли ФК вдвое и снижению ФХ. Самые ненасыщенные фосфолипиды характерны для щелочных условий, при снижении рН в среде степень ненасыщенности жирных кислот основных фосфолипидов (ФЭ и ФХ) возрастает за счет повышения доли линолевой кислоты. В запасных нейтральных липидах при всех условиях доминируют ТАГ. Изменение состава нейтральных липидов наблюдается только в самых кислых условиях – увеличивается доля СЖК и ДАГ на фоне снижения ТАГ.

S. alkalinus. В оптимальных условиях (рН 10.2) основные углеводы представлены маннитом и арабитом, доли трегалозы и эритрита составляют 10-11% (рис. 3). Культивирование гриба в нейтральных и кислых условиях приводит к снижению общего содержания углеводов на 20% за счет уменьшения количества арабита и эритрита до следового. Содержание трегалозы возрастает в два раза в нейтральных условиях, а в кислых резко падает до 22%.

Количество липидов в оптимальных условиях роста составляет около 4% от сухой массы и увеличивается в полтора раза в нейтральных и кислых условиях. Мембранные липиды представлены, в основном, ФЭ, ФХ, ФК и Ст. В ответ на снижение рН наблюдается повышение долей ФЭ и ФК на фоне снижения стеринов. Степень ненасыщенности жирных кислот основных фосфолипидов при снижении рН заметно повышается за счет увеличения доли линолевой кислоты на фоне снижения олеиновой. В нейтральных липидах доли ТАГ и ДАГ составляют по 40% от суммы, а доля СЖК не превышает 13%. При снижении рН наблюдался рост доли ДАГ на фоне снижения ТАГ и СЖК.

Алкалотолерантные грибы

S. antarcticus. Доминирующие углеводы - маннит и арабит (рис. 3). Доля трегалозы не превышает 9% от суммы сахаров и не меняется в зависимости от внешнего рН. Самое высокое значение соотношения арабит/маннит отмечено при рН 10.2 (1.1), снижение рН приводит к снижению соотношения до 0.65 при рН 7.0 и 0.49 при рН 4.0.

Количество общих липидов при рН 4.0; 7.0 и 10.2 составляет 5.9, 5.8 и 8.3% от сухой массы. Доминирующие мембранные липиды - ФХ, ФЭ и Ст. При снижении рН наблюдается снижение доли стеринов и ФЭ на фоне возрастания доли неидентифицированного фосфолипида Х1. Степень ненасыщенности жирных кислот фосфатидилхолинов значительно возрастает на нейтральной и кислой среде по сравнению со щелочной за счет повышения количества линолевой

кислоты на фоне снижения пальмитиновой и олеиновой. В запасных липидах доминируют ТАГ (70-80%), в кислых условиях повышается доля ДАГ и снижается ТАГ, тогда как доля СЖК остаётся неизменной.

A. luteoalbus. Основные углеводы цитозоля представлены маннитом и арабитом (рис. 3). Доля трегалозы не превышает 7% от суммы сахаров и не изменяется под влиянием pH. При pH 10.2 соотношение арабита и маннита достигает наибольшего значения (1.53), и падает до 0.73 при pH 7.0 и 0.80 при pH 4.5. Количество общих липидов при pH 4.5; 7.0 и 10.2 составляет, соответственно, 3.8, 5.3 и 6.5% от сухой массы. Мембранные липиды представлены, в основном, ФХ, ФЭ и Ст. В ответ на уменьшение внешнего pH наблюдается повышение долей ФХ и ФЭ (на 35%) на фоне снижения стерина (на 40%). Степень ненасыщенности жирных кислот двух основных фосфолипидов (ФЭ и ФХ) повышается в нейтральных и кислых условиях. В запасных липидах доминируют ТАГ (67-75% от суммы). Снижение внешнего pH сопровождается уменьшением доли СЖК и повышением ДАГ.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе впервые было охарактеризовано функциональное щёлочеустойчивое звено грибных сообществ в местообитаниях с разными значениями pH и типами засоления: в экстремально щелочных почвах побережья содового оз. Магади (Кения), в почвах нейтрального засоления побережья хлоридного оз. Баскунчак, в кислых дерново-подзолистых и нейтральных окультуренных почвах средней полосы России. Количество пропагул щёлочеустойчивых грибов во всех исследованных регионах на несколько порядков ниже значений, известных для нейтральных почв при выделении на стандартные среды (Озерская, 1980; Мирчинк, 1988).

Разнообразие щёлочеустойчивых грибов

Алкалофильные и алкалотолерантные грибы представляют собой полифилетичную группу аскомицетов. Преимущественно они относятся к *Plectosphaerellaceae* (*Glomerellales*), *Hypocreales* в *Sordariomycetes*. Отдельные щёлочевыносливые представители отмечены и в других классах - *Dothideomycetes* (*Cladosporiaceae*, *Pleosporaceae*), *Eurotiomycetes* (*Trichocomaceae*, *Onygenaceae*). Такое таксономическое распределение весьма характерно для содовых озёр и солончаков (Grum-Grhimaylo et al., 2016) и, по всей видимости, распространяется на щёлочеустойчивое звено грибных сообществ разных местообитаний.

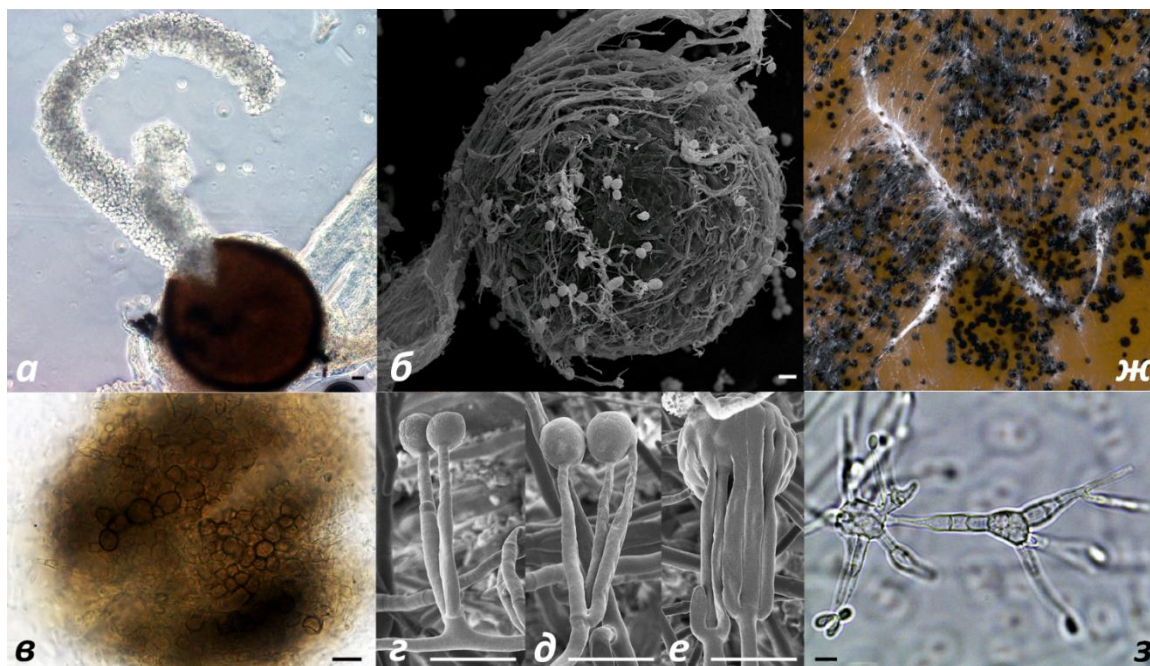


Рис. 4. *Sodiomyces magadii* а. Выход аскоспор в слизи из плодового тела (СМ). б. Плодовое тело (СЭМ). *Sodiomyces tronii* в. Ранняя стадия формирования плодового тела. Цепочки хламидоспор, участвующие в формировании экзоперидия. г–е. Конидиеносцы с головками конидий в общей слизи (криоСЭМ). *Sodiomyces* sp. nov. ж. Мицелиальные тяжи и плодовые тела в агаре. з. Конидиеносцы и конидии (СМ). Шкала – 10 мкм для всех фото.

Алкалофильные грибы

Алкалофилы имеют локальное распространение, они не были отмечены в кислых и нейтральных почвах. Обнаружение в щелочной почве побережья содового озера Магади двух новых облигатно алкалофильных видов ранее монотипного рода *Sodiomyces*, характерного для содовых озер и солончаков, в очередной раз подтверждает наличие функционально значимой группы грибов в подобных местообитаниях. Об этом свидетельствует и высокая физиологическая приспособленность (термо-, галотолерантность) новых видов, и особенности их морфологии, обеспечивающие способность выживать в условиях постоянно меняющейся влажности и минерализации (рис. 4). Замкнутые плодовые тела, обильное образование слизи вокруг мицелия, половых и бесполов спор позволяют, по-видимому, переживать *Sodiomyces* spp. периоды засухи и сильной минерализации, распространение спор (как аскоспор, так и конидий) происходит во влажной среде. Совершенно неожиданным стало присутствие нового облигатно алкалофильного вида *Sodiomyces* sp. nov. в условиях нейтрального засоления, ранее род *Sodiomyces* предложено было считать индикатором стабильного

содового засоления (Grum-Grzhimaylo et al., 2013a, Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Сравнительно высокая встречаемость (25 %) отвергает случайность обнаружения, это наталкивает на рассуждения об экологии представителей рода *Sodiomyces*. Характерна их изоляция из мест с отсутствием растительности. Исследование грибов *in vivo* в образцах и чистых культур *in vitro* свидетельствует об их тесных ассоциативных связях с бактериями, о возможности существования в составе биопленок, в т.ч. и в составе цианобактериальных пленок, где в процессе фотосинтеза часто возникают условия локального защелачивания.

На побережье нейтрального хлоридного озера показано присутствие и факультативных алкалофилов *Emericellopsis* spp. Грибы этого рода были отмечены ранее с высокой частотой на побережьях как щелочных, так и засоленных нейтральными солями водоемов (Биланенко, Георгиева, 2005; Георгиева и др., 2012а, б). Приуроченность его к засоленным условиям подтверждается физиологическими характеристиками, гриб выдерживает более высокие, в сравнении с другими изученными алкалофилами, концентрации NaCl (оптимум - 0.4 М). В литературе имеются указания на возможную деструкцию грибами рода *Emericellopsis* поверхностных слоев цианобактериальных матов (Carreira et al., 2015), которые активно развиваются в оз. Баскунчак.

Алкалотолерантные грибы

Алкалотолеранты, как умеренные, так и сильные, распространены гораздо шире алкалофилов – они встречаются не только в щелочных засоленных местообитаниях (оз. Магади), но и в кислых, и в нейтральных почвах, как засоленных (побережье оз. Баскунчак), так и незасоленных (дерново-подзолистые, окультуренные почвы). Изолированные алкалотолерантные виды, по данным литературы, встречаются в почвах и других типов в разных регионах мира, в том числе и в содовых почвах побережья озер Кулундинской степи Западной Сибири в России, Кении, Танзании, Монголии (Nagai et al., 1998; Георгиева и др., 2012б; Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Среди них есть виды, известные как патогены растений, беспозвоночных животных, других грибов, сапротрофные обитатели ризосферы, виды, отмеченные на талломах лишайников. Принимая во внимание мозаичную структуру почвы как среды обитания, можно предположить, что в отдельных микроразнообразиях нейтральных и кислых почв могут складываться щелочные условия в результате процессов фотосинтеза, аммонификации и сульфатредукции.

Наличие щёлочеустойчивого звена микодеструкторов в таких условиях всегда остается актуальным. В литературе имеются данные и о роли щёлочеустойчивости в патогенезе растений (Caracuel et al., 2003).

Роль растворимых углеводов цитозоля, мембранных и запасных липидов в адаптации алкалофильных и алкалотолерантных грибов к внешнему рН

Растворимые углеводы цитозоля

Исследованы три облигатных алкалофила из рода *Sodiomyces* (*Plectosphaerellaceae*). Все они содержат в мицелии большое количество трегалозы. Как было показано на *S. tronii*, её количество в процессе роста может достигать до 10 % от сухой массы мицелия. Можно считать, что трегалоза имеет важное значение для алкалофилии. Уровень трегалозы в клетках алкалофилов сравним с количеством этого дисахарида у термофильных (Ianutsevich et al., 2016) и у мезофильных грибов в условиях теплового шока (Терешина и др., 2011). Известно, что трегалоза может выполнять функции транспортной формы углерода в мицелии грибов, запасного соединения, осмолита, протектора макромолекул и мембран в клетке при различных стрессорных воздействиях, может участвовать в фолдинге белков в состоянии стресса и снижать перекисное окисление липидов, т.е. выполнять антиоксидантную функцию, при этом основной считают протекторную функцию (Crowe, 2007; Elbein et al., 2003; Feofilova et al., 2014; Iturriaga et al., 2009). Высокое содержание трегалозы у *S. tronii*, вероятно, связано с повышенным температурным оптимумом у этого гриба (32 °С против 28-30 °С у двух других грибов). Отсутствие у *S. tronii* резкого падения доли трегалозы в кислых условиях роста, которое наблюдается у *S. magadii* и *S. alkalinus*, мы объясняем пониженным рН оптимумом (9.2) у первого алкалофила.

В ответе на повышение рН (до 10.2) у *S. tronii* принимают участие полиолы - резко увеличивается количество маннита, появляется арабит. У двух других алкалофилов маннит присутствует в большом количестве при всех значениях рН, а арабит также появляется только в щелочных условиях. Возможно, полиолы в этом случае участвуют в регуляции внутриклеточного рН - существует мнение, что их образование функционирует как сток протонов (Jennings, 1984).

В качестве сильных алкалотолерантов исследованы два других представителя *Plectosphaerellaceae* – *Chordomyces antarcticus* и *Acrostalagmus*

luteoalbus. В отличие от алкалофилов, у алкалотолерантов трегалоза является минорным компонентом и не изменяется под влиянием pH. Основными углеводами цитозоля при всех изученных значениях pH у них являются арабит и маннит, тогда как для алкалофилов этот полиол характерен только в щелочных условиях роста (pH 10.2). Защитные реакции в отношении pH у алкалотолерантов включают изменение соотношения арабита и маннита: в щелочных условиях доминирует арабит, а в нейтральных и кислых – маннит. Функция арабита у алкалофилов и алкалотолерантов пока остается неясной, но установлено, что этот полиол участвует в адаптации галотолерантного мицелиального гриба *Fusarium* sp. к большим концентрациям соли (Смолянюк и др., 2013).

Мембранные и запасные липиды

У алкалофильного гриба *S. tronii* необычной особенностью является преобладание фосфатидных кислот на ранних стадиях развития гриба. С возрастом относительное содержание этих соединений падает на фоне возрастания доли стерина. Такое повышенное содержание ФК у грибов впервые было показано в условиях теплового шока у мезофильных грибов (Терешина и др., 2010, 2011) и у термофильных грибов в оптимальных условиях (Ianutsevich *et al.*, 2016; Yanutsevich *et al.*, 2014). Большая доля небислойных липидов, к которым относятся ФК, может отражать такие процессы как экзо- и эндоцитоз, для которых требуется образование везикул (Kooijman *et al.*, 2003; McMahon, Gallop, 2005). При увеличении pH состав мембранных липидов практически не меняется, в кислых же условиях значительно возрастает доля сфинголипидов и стерина, что указывает на образование рафтов - особых защитных комплексов стерина и сфинголипидов с интегральными белками (Alvarez *et al.*, 2007; Simons, Sampaio, 2011).

Дальнейший сравнительный анализ мембранных и запасных липидов алкалофильных и алкалотолерантных грибов не позволил выявить каких-либо общих закономерностей их поведения в условиях изменения внешнего pH. Механизм изменения текучести мембраны, задействованный в ответе на многие типы стресса, по всей видимости, не участвует в адаптации грибов к внешнему pH.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В главе подведен общий итог исследований, обозначены направления дальнейшей работы.

ВЫВОДЫ

1. Впервые обнаружены щёлочеустойчивые грибы (облигатные и факультативные алкалофилы, алкалотолеранты) в стабильно щелочных (pH 10 - 11) содовых почвах побережья оз. Магади; в нейтральных (pH 7.7) хлоридных почвах побережья оз. Баскунчак, в кислой (pH 4.9) дерново-подзолистой и нейтральной (pH 7.0) окультуренной почвах средней полосы России;
2. Щёлочеустойчивые грибы обнаружены исключительно среди аскомицетов, преимущественно в *Plectosphaerellaceae* (*Glomerellales*, *Sordariomycetes*, *Ascomycota*). Отдельные щёлочеустойчивые представители отмечены в *Dothideomycetes* (*Cladosporiaceae*, *Pleosporaceae*), *Eurotiomycetes* (*Trichocomaceae*, *Onygenaceae*);
3. Обнаружены и описаны новые для науки виды рода *Sodiomyces* в засоленных почвах побережья содового озера Магади (*S. tronii*, *S. magadii*) и хлоридного озера Баскунчак (*Sodiomyces* sp. nov.). Они охарактеризованы как облигатные алкалофилы, галотолеранты и термотолеранты, приспособленные к жизни в экстремальных условиях гиперсолёных озёр;
4. Алкалофильные виды обнаружены только в засоленных местообитаниях, для алкалотолерантов показано более широкое распространение как в почвах разных типов засоления, так и в кислых дерново-подзолистых, в нейтральных и окультуренных почвах;
5. Впервые показано, что ответ на изменение внешнего pH у алкалофильных и алкалотолерантных грибов различается. У алкалофилов большую роль играет трегалоза, высокий уровень которой наблюдается на всех стадиях роста при различных pH, в щелочных условиях характерна аккумуляция маннита и арабита. У алкалотолерантов ответ на изменение pH происходит только за счет изменения соотношения арабита и маннита, при этом маннит доминирует в нейтральных и кислых условиях, а арабит – в щелочных.
6. Впервые выявлено, что в трофофазе у алкалофильного гриба *S. tronii*, в составе мембранных липидов доминируют небислойные фосфолипиды - фосфатидные кислоты, а в ответ на снижение pH среды существенно возрастает доля стерина и сфинголипидов, что указывает на образование рафтов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Научные статьи, опубликованные в журналах, входящих в международные базы данных Scopus, WoS, RSCI:

1. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., **Bondarenko S.A.**, Debets A.J.M., Bilanenko E.N. 2016. On the diversity of fungi from soda soils // *Fungal Diversity*. Vol. 76. N 1. P. 27–74. IF 13.465
2. **Бондаренко С.А.**, Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н. 2016. Алкалотолерантные микромицеты в кислых и нейтральных почвах умеренных широт // *Микробиология*. Т. 85. № 6. С. 722–731. IF 0.856
3. **Bondarenko S.A.**, Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Grum-Grzhimaylo A.A., Kotlova E.R., Kamzolkin O.V., Bilanenko E.N., Tereshina V.M. 2017. Membrane lipids and soluble sugars dynamics of the alkaliphilic fungus *Sodiomyces tronii* in response to ambient pH // *Extremophiles*. Vol. 21. N 4. P. 743–754. IF 2.236
4. **Бондаренко С.А.**, Януцевич Е.А., Сеницына Н.А., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н., Терёшина В.М. 2018. Динамика растворимых углеводов цитозоля и мембранных липидов в ответ на изменения внешнего pH у алкалофильных и алкалотолерантных грибов // *Микробиология*. Т. 87. № 1. С. 12–22. IF 0.856
5. **Bondarenko S.A.**, Georgieva M.L., Bilanenko E.N. 2018. Fungi inhabiting the coastal zone of Lake Magadi // *Contemporary Problems of Ecology*. Vol. 11. N 5. P. 439–448. IF 0.366

Другие работы, опубликованные по теме диссертации:

6. Биланенко Е.Н., Георгиева М.Л., **Бондаренко С.А.**, Грум-Гржимайло А.А. 2015. Алкалофильные и алкалотолерантные мицелиальные грибы в почвах: разнообразие, филогения, особенности физиологии // *Биоразнообразие и экология грибов и грибоподобных организмов северной Евразии: материалы Всерос. конф. с международ. участием* / под ред. Куракова А.В. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та. С. 20–22.
7. Георгиева М.Л., **Бондаренко С.А.**, Биланенко Е.Н. 2017. Коллекция алкалофильных и алкалотолерантных мицелиальных грибов кафедры микологии и альгологии МГУ // *Современная микология в России* / под ред. Биланенко Е.Н., Ворониной Е.Ю., Дьякова Ю.Т и др. М.: Национальная академия микологии. Т. 6. С. 295–296.
8. Георгиева М.Л., **Бондаренко С.А.**, Биланенко Е.Н. 2017. Щелочеустойчивые микромицеты на поверхности талломов лишайника *Xanthoria elegans* //

Современная микология в России / под ред. Биланенко Е.Н., Ворониной Е.Ю., Дьякова Ю.Т и др. М.: Национальная академия микологии. Т. 6. С. 321–322.

9. Терёшина В.М., **Бондаренко С.А.**, Януцевич Е. А., Данилова О. А., Камзолкина О. В., Котлова Е. Р., Биланенко Е. Н. 2017. Механизмы адаптации алкалофильного гриба *Sodiomyces tronii* к внешнему pH. // Современная микология в России / под ред. Биланенко Е.Н., Ворониной Е.Ю., Дьякова Ю.Т и др. М.: Национальная академия микологии. Т. 6. С. 319–320.

Тезисы международных конференций:

10. **Bondarenko S.A.**, Grum-Grzhimaylo A.A., Bilanenko E.N., Georgieva M.L. 2014. Filamentous fungi from soda soils at Magadi lake // Book of Abstracts of 10th International Congress on Extremophiles / Extremophiles 2014. Saint Petersburg. P. 158–158.

11. **Bondarenko S.A.**, Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Bilanenko E.N. 2015. A survey of filamentous fungi at the extremely alkaline Magadi lake // XVII Congress of European Mycologists / European Mycological Association Madeira. Portugal. P. 60–61.

12. Tereshina V.M., **Bondarenko S.A.**, Yanutsevich E.A., Danilova O.A., Kamsolkina O.V., Kotlova E.R., Bilanenko E.N. 2015. Adaptation of alkalophilic fungus *Sodiomyces tronii* to the conditions with different pH // XVII Congress of European Mycologists / European Mycological Association. Madeira, Portugal. P. 64.

13. Georgieva M.L., **Bondarenko S.A.**, Sadykova V.S., Rogozhin E.A., Tereshina V.M., Ianutsevich E.A., Bilanenko E.N. 2017. On the ecology and physiology of facultative alkaliphilic ascomycete *Emericellopsis alkalina* // 13th International Conference on Salt Lake Research (ICSLR 2017) / State University Publishing Department Ulan-Ude. Russia. P. 113–114.

14. Tereshina V.M., **Bondarenko S.A.**, Ianutsevich E.A., Sinitsina N.A., Bilanenko E.N. 2017. Organic osmolytes in adaptation of alkaliphilic and alkalitolerant fungi to the ambient pH // 13th International Conference on Salt Lake Research (ICSLR 2017) / State University Publishing Department Ulan-Ude. Russia. P. 100.

15. **Bondarenko S.A.**, Georgieva M.L., Bilanenko E.N. 2017. Obligate alkaliphilic fungi inhabiting the littoral zone of hypersaline lakes // 13th International Conference on Salt Lake Research (ICSLR 2017) / State University Publishing Department Ulan-Ude. Russia. P. 73.

Тезисы российских конференций:

16. **Бондаренко С.А.,** Биланенко Е.Н., Георгиева М.Л. 2015. Алкалотолерантные микромицеты в слабокислых и околонеutralных почвах // Современная микология в России / под ред. Биланенко Е.Н., Ворониной Е.Ю., Дьякова Ю.Т. и др. М.: Национальная академия микологии. Т. 4. С. 177–178.
17. **Бондаренко С.А.,** Януцевич Е.А., Данилова О.А., Биланенко Е.Н., Терешина В.М. 2016. Роль растворимых углеводов цитозоля в адаптации алкалофильного гриба *Sodiomyces tronii* к неблагоприятным условиям pH // Фундаментальная гликобиология: Материалы конференции / III Всероссийская конференция. Владивосток: Мор. гос. ун-т. С. 95.
18. Терёшина В.М., Януцевич Е.А., **Бондаренко С.А.,** Данилова О.А., А. Гроза Н.В., Мокроусова Н.А., Камзолкина О.В., Биланенко Е.Н. 2016. Растворимые углеводы цитозоля в адаптации экстремофильных грибов // Фундаментальная гликобиология: Материалы конференции / III Всероссийская конференция. Владивосток: Мор. гос. ун-т. С. 114.
19. **Бондаренко С.А.,** Георгиева М.Л., Януцевич Е.А., Терешина В.М., Биланенко Е.Н. 2017. Алкалофильные грибы в засоленных местообитаниях // I Российский Микробиологический конгресс: сборник тезисов / под редакцией Решетиловой Т.А. М.: ИД "Вода: химия и экология". С. 31–32.
20. Терёшина В. М., Януцевич Е. А., **Бондаренко С. А.,** Викчижанина Д.А., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н. 2018. Роль органических осмолитов углеводной природы в адаптации экстремофильных грибов к стрессорным абиотическим факторам // Фундаментальная гликобиология: Материалы конференции / IV Всероссийская конференция. Киров: Науч. изд-во ВятГУ. С. 149.