



УДК 582.284:581.95(470.13)

Pseudoarmillariella ectypoides (Hygrophoraceae, Agaricales) – первые находки в Европе

М. А. Паламарчук^{1,2*}, Д. В. Кириллов^{1,3}, Д. М. Шадрин^{1,4}

¹ Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, ул. Коммунистическая, д. 28, Сыктывкар, 167982, Россия

² E-mail: palamarchuk@ib.komisc.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-8538-969X>

³ E-mail: kirdimka@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6577-693X>

⁴ E-mail: shdimas@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4365-0145>

* Автор для переписки

Ключевые слова: биоразнообразие, ДНК-штрихкодирование, микобиота, национальный парк «Койгородский», особо охраняемые природные территории, Печоро-Илычский заповедник, Республика Коми, ITS.

Аннотация. Приводятся сведения о первых находках на территории Европы *Pseudoarmillariella ectypoides*. Вид собран на северо-востоке европейской части России, в границах Республики Коми. На территории России ранее были отмечены одиночные находки в Сибири и на Дальнем Востоке. Основной ареал вида – Северная Америка. Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей ITS (участок яДНК ITS1-5,8S-ITS2) образцов *P. ectypoides* с данными, депонированными в международных базах GenBank и BOLD, показало 99,2–99,7 % сходство с образцами *P. ectypoides* из Северной Америки и Южной Сибири. В статье представлено описание, приведены фотографии плодовых тел и микроструктур, даются сведения о распространении и экологии этого вида, обсуждаются различия с морфологически схожими видами.

Pseudoarmillariella ectypoides (Hygrophoraceae, Agaricales): first records in Europe

М. А. Palamarchuk, D. V. Kirillov, D. M. Shadrin

Institute of Biology of Komi Science Centre of UB of RAS, Kommunisticheskaya St., 28, Syktyvkar, 167982, Russian Federation

Keywords: biodiversity, DNA barcoding, ITS, Komi Republic, Koygorodsky National Park, mycobiota, Pechoro-Ilychsky Reserve, specially protected natural areas.

Summary. This article provides information on the first records of *Pseudoarmillariella ectypoides* in Europe. The studied specimens were collected in the north-eastern European part of Russia, within the borders of the Komi Republic. *Pseudoarmillariella ectypoides* is widely distributed in North America and has been reported in Russia from a few localities in Siberia and the Far East. The newly generated ITS (ITS1-5.8S-ITS2 rDNA region) nucleotide sequences of *P. ectypoides* samples were compared with data deposited in the international databases GenBank and BOLD showed 99.2–99.7 % similarity with *P. ectypoides* samples from North America and South Siberia. The detailed description as well as photographs of fruiting bodies and microstructures are provided. Information on the distribution and ecology of this species is also presented, differences with morphologically similar species are discussed.

Введение

Род *Pseudoarmillariella* (Singer) Singer (Hydrophoraceae) включает три вида, распространенных в Америке и Азии (Horak, 1971; Singer, 1986; Kirk et al., 2008; Yang et al., 2013). Представители рода характеризуются плодовыми телами омфалиоидного типа с воронковидной, радиально-волоконистой шляпкой, преимущественно желтоватых или коричневатых тонов, с низбегающими пластинками; споры гладкие бесцветные, амилоидные; гифы пилеипеллиса инкрустированные (Lodge et al., 2014). На территории России отмечен один вид этого рода – *Pseudoarmillariella ectypoides* (Peck) Singer. Известны одиночные находки вида на Дальнем Востоке (Vassiljeva, 1973) и в Южной Сибири (Malysheva et al., 2017). *Pseudoarmillariella ectypoides* широко распространен в Северной Америке (*Pseudoarmillariella ectypoides*, 2024).

Республика Коми с расположенным на ее территории Уральским горным хребтом является не только границей Европы и Азии, но и естественной границей распространения многих сибирских и американских видов. Так, впервые для Европы здесь были отмечены такие виды с преимущественно азиатско-американским распространением, как *Crinipellis piceae* Singer, *Lactarius kauffmanii* Hesler et A. H. Sm., *Suillus acidus* var. *intermedius* A. H. Sm. et Thiers, *S. punctipes* (Peck) Singer (Palamarchuk, 2009; Palamarchuk et al., 2021, 2022).

В результате экспедиционных работ в 2022 г. в южной части Республики Коми, на территории национального парка «Койгородский», было выявлено два местонахождения *Pseudoarmillariella ectypoides*. Правильность идентификации вида по морфологическим признакам была подтверждена молекулярно-генетическими методами. В результате анализа коллекционных материалов гербария Института биологии Коми НЦ УрО РАН (SYKOf) этот вид был выявлен и на территории Печоро-Илычского заповедника, в предгорьях Северного Урала.

Материалы и методы

Материалом для данной статьи послужили образцы рода *Pseudoarmillariella*, хранящиеся в коллекции грибов гербария Института биологии Коми НЦ УрО РАН (SYKOf, г. Сыктывкар). Все они были собраны авторами статьи в результате полевых исследований в 2000–2022 гг.

в Троицко-Печорском и Койгородском р-нах Республики Коми. Для мест сбора образцов с помощью GPS приемника Garmin GPSmap 62 (Garmin, США) определяли географические координаты в системе WGS 84. Материал гербаризировали по стандартной методике (Muller et al., 2004). Описание макропризнаков плодовых тел проводили в поле на свежих образцах. Камеральные работы по идентификации образцов осуществляли в отделе флоры и растительности Севера Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Микроскопирование базидиом проводили с использованием стандартных реактивов (КОН 5 %, реактив Мельцера). Размеры всех микроструктур оценивались не менее чем по 20 измерений с каждого образца. В описании спор коэффициент Q определен как отношение длины споры к ее ширине, звездочкой помечено его среднее значение. Изображения микроморфологических признаков получены цифровой камерой Moticam S12 на микроскопе Olympus CX43 («Olympus», Япония).

Тотальную ДНК из высушенных образцов грибов выделяли с помощью набора «ДНК-Экстран-3» («Синтол», Россия), в соответствии с инструкциями производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 50 мкл смеси, содержащей 10 мкл Screen Mix («Евроген», Россия), 10 мкл каждого праймера (0,3 мкМ) («Евроген», Россия), 18 мкл ddH₂O («Панэко», Россия) и 2 мкл ДНК-матрицы (1–100 нг). Последовательность ITS1-5.8S-ITS2 яДНК (ITS) амплифицировали с использованием праймеров ITS-1F и ITS-4B, общепринятых для базидиальных грибов (Gardes, Bruns, 1993).

Амплификация последовательности ITS включала предварительную денатурацию в течение 5 мин при температуре 95 °С и далее 35 циклов, включающие: денатурацию 60 с при температуре 95 °С, отжиг праймеров 30 с при температуре 55 °С и элонгацию 40 с при температуре 72 °С, с окончательной элонгацией 5 мин при температуре 72 °С. Продукты реакции амплификации разделяли методом электрофореза в 1,3%-м агарозном геле в 1 × TAE (трисацетатном) буферном растворе с бромистым этидием, для визуализации использовали трансиллюминатор UVT-1 («Биоком», Россия). В качестве маркера длины фрагментов ДНК использовали 100 bp Ladder DNA marker (100 bp–1000 bp) («Евроген», Россия). Для очистки полученного продукта реакции амплификации использовали набор ColGen («Синтол», Россия). Концентра-

цию ДНК и ПЦР продуктов измеряли на флуориметре Qubit 3 («Invitrogen», США). Секвенирование проводилось с использованием набора реагентов ABI Prism BigDye Terminator v. 3.1 на генетическом анализаторе «Нанофор 05» («Синтол», Россия).

Нуклеотидные последовательности выровняли с помощью онлайн-сервиса MAFFT version 7 (Katoh et al., 2019) и редактировали вручную в программном пакете MEGA11 (Tamura et al., 2021). Полученные в результате работы нукле-

отидные последовательности были депонированы в международную базу GenBank (NCBI) под номерами PP489460 и PP489461. В качестве сравнительного материала были использованы общедоступные ITS последовательности видов рода *Pseudoarmillariella*, взятые из международных баз GenBank и BOLD Systems (табл. 1).

Молекулярно-генетические исследования проводили с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

Таблица 1

Результаты сравнения полученных нуклеотидных последовательностей ITS образцов *Pseudoarmillariella ectypoides* с наиболее сходными последовательностями, депонированными в международных базах GenBank и BOLD (алгоритм сравнения BLASTn)

Код сиквенса в GenBank/ BOLD	Номер образца	Страна	Длина последовательности, п.н	Сходство последовательностей, %	
				PP489460 745 bp	PP489461 755 bp
MW899476	–	США: Северная Каролина	676	99,7 % (646/648)	99,7 % (656/658)
ONT022-08*	ALG07_23	Канада: Онтарио	591	99,66 % (590/591)	99,66 % (590/591)
DQ192175	PBM 1588	США: Вашингтон	691	99,54 % (648/651)	99,54 % (658/661)
KM406972	–	Канада	642	99,53 % (639/642)	99,53 % (639/642)
ON738532	UBC: F34019	Канада: Британская Колумбия	622	99,52 % (620/622)	99,52 % (620/622)
OL739886	LE 310516	Россия: Красноярский край	660	99,4 % (656/660)	99,4 % (656/660)
OR945073	iNaturalist 173680341	США: Огайо	665	99,38 % (637/641)	99,38 % (637/641)
OL840634	LE-BIN 3837	Россия: Красноярский край	646	99,23 % (642/646)	99,23 % (642/646)
ONT113-08*	ALG07_114	Канада: Онтарио	590	99,16 % (587/590)	99,16 % (587/590)

Примеч.: полужирным шрифтом выделены изучаемые нуклеотидные последовательности образцов из Республики Коми. Знаком * отмечены последовательности из базы данных BOLD.

Результаты

Pseudoarmillariella ectypoides (Peck) Singer (рис. 1): Республика Коми: «Троицко-Печорский р-н, Печоро-Илычский заповедник, 6 км вверх по р. Печора от кордона Шежим, левый берег р. Печора, окрестности стационара Гаревка Левобережная, 62°3'36.8" с. ш. 58°28'4.8" в. д., ельник травяно-зеленомошный, на гнилой древесине. 04 VIII 2000. М. А. Паламарчук» (SYKOf

3847); «Койгородский р-н, национальный парк “Койгородский”, окрестности туристической стоянки “Грань”, левый берег р. Мытец, 59°47'29.2" с. ш. 50°16'4.7" в. д., смешанный папоротниковый лес в долине ручья, на гнилой древесине. 12 VIII 2022. М. А. Паламарчук» (SYKOf 4111, GenBank ITS PP489460); там же, «300 м на юго-запад от избушки, левый берег р. Мытец, 59°47'17.1" с. ш. 50°15'25.2" в. д., елово-пихтовый папоротниковый лес с примесью

березы, ольхи, рябины, на валеже. 15 VIII 2022. М. А. Паламарчук» (SYKOf 4112, GenBank ITS PP489461).

Ниже приводится морфологическое описание вида, составленное на основании изученных образцов.

Шляпка 2–3 см в диаметре, выпуклая с небольшим углублением в центре до глубоко воронковидной, светло-коричневая, светло-желто-коричневая, радиально вросше-волоконистая, с мелкими отстоящими коричневатыми чешуйками. Пластинки, нисходящие на ножку, кремо-

вые, грязно-желтоватые. Ножка 1–3 см длиной 0,3–0,5 см толщиной, цилиндрическая, к низу немного расширенная, одноцветная со шляпкой или немного светлее, продольно мелковолоконистая.

Базидии 4-споровые, (26)32–40(42) × (4,8)5,5–6,5(7,8) мкм, узкобулавовидные. Споры (6)6,5–8,5(9) × 4–5,4 мкм, эллипсоидальные, гладкие, гиалиновые, амилоидные. $Q = 1,3–2,0$ ($Q^* = 1,6$). Хейло- и плевростидии отсутствуют. Пилеипеллис – кутис, гифы кутикулярного слоя инкрустированы пигментом. Все гифы с пружками.

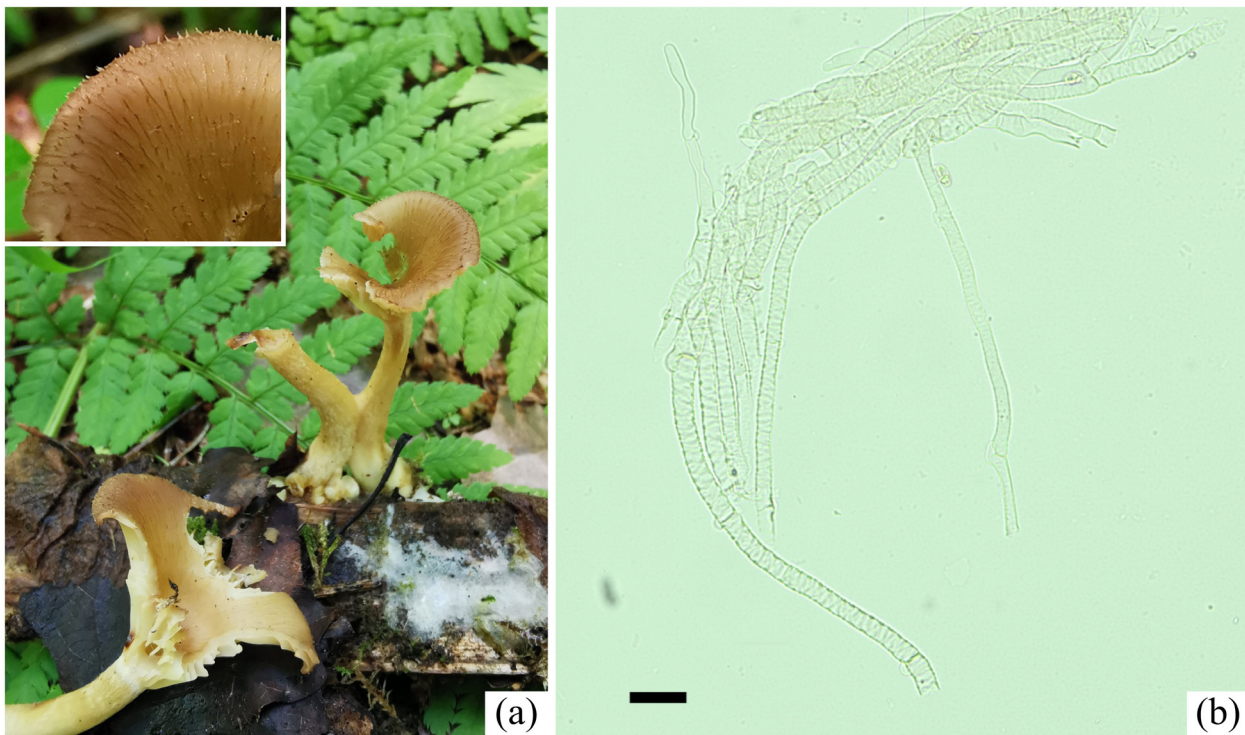


Рис. 1. *Pseudoarmillariella ectypoides* (SYKOf 4111): а – базидиомы; б – гифы кутикулы шляпки. Масштабная линейка: 20 мкм.

Молекулярные данные

Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей ITS для образцов *P. ectypoides* с данными, депонированными в международных базах GenBank и BOLD, с помощью инструмента BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), показало 99,2–99,7 % сходство с девятью образцами *P. ectypoides* (табл. 1). Различия между нашими образцами и образцами из Северной Америки и Южной Сибири составили два и четыре нуклеотида, соответственно. В целом процент сходства очень высокий, что указывает на правильность идентификации вида по морфологическим признакам.

Обсуждение

Основной ареал *Pseudoarmillariella ectypoides* – Северная Америка (*Pseudoarmillariella ectypoides*, 2024). В Азии известны только единичные находки вида на территории России: на Дальнем Востоке (Vasilyeva, 1973) и в Южной Сибири (Malysheva et al., 2017, 2022; Krom et al., 2024). Наши находки *P. ectypoides* на территории Республики Коми – это первое упоминание вида для Европы. Было выявлено три местонахождения. Одно – в предгорьях западного макросклона Северного Урала, на территории Печоро-Ильчского заповедника, в бассейне р. Печора. Две другие

находки на расстоянии более 400 км от первой точки, в южной части Республики Коми, на территории национального парка «Койгородский», в бассейне р. Мытец. Ближайшее известное местообитание *P. ectypoides* в Сибири (Красноярский край) находится на расстоянии примерно 2,6 тыс. км (Malysheva et al., 2022).

Согласно данным литературы, вид растет в хвойных и смешанных лесах, на древесине предпочтительно хвойных видов деревьев, одиночно или небольшими группами (Norvell et al., 1994; Malysheva et al., 2022). Наши образцы были собраны в хвойных (*Picea obovata* Ledeb., *Abies sibirica* Ledeb., *Pinus sibirica* Du Tour, *Betula pendula* Roth) и смешанных (*Picea obovata*, *Betula pendula*, *Alnus incana* (L.) Moench, *Sorbus aucuparia* L., *Tilia cordata* Mill.) лесах, на гнилой древесине. Все выявленные местообитания расположены на особо охраняемых территориях в старовозрастных ненарушенных лесах, богатых валежом.

Род *Pseudoarmillariella* филогенетически близок к роду *Cantharellula*, от которого отличается наличием инкрустированного пигмента на гифах кутикулы шляпки и ярких охристых пигментов в гимении (Lodge et al., 2014). Род *Pseudoarmillariella* включает три вида (*P. bacillaris* Zhu L. Yang, B. Feng et Y. J. Hao, *P. fistulosa* (G. Stev.) E. Horak и *P. ectypoides*). Вид *P. bacillaris* был описан из Западного Китая в 2013 г. (Yang et al., 2013). Отчетливо отличается от других представителей рода веретеновидными, практически болютоидными спорами, а также присутствием красноватых оттенков в окраске плодового тела. Еще один представитель рода *Pseudoarmillariella* – *P. fistulosa* – распространен в Новой Зеландии (Horak, 1971). *Pseudoarmillariella fistulosa* отличается от *P. ectypoides* более мелкими спорами, наличием булавовидных хейлоцистид и полой ножкой.

Вид *P. ectypoides* морфологически очень схож и в полевых условиях может быть спутан с *Gerronema xanthophyllum* (Bres.) Norvell, Redhead et Ammirati, который также был отмечен на территории Республики Коми. Поверхность

шляпки у *G. xanthophyllum* радиально волокнистая, гладкая, без отчетливых чешуек, у *P. ectypoides* чешуйки на шляпке отчетливо выражены. Наиболее надежно отличить *P. ectypoides* от *G. xanthophyllum* можно только по наличию инкрустированных гиф в кутикуле шляпки у *P. ectypoides*. Другой вид рода *Gerronema* – *G. strombodes* (Berk. et Mont.) Singer – также схож с *P. ectypoides*, однако распространен только в Северной Америке (Norvell et al., 1994). Некоторое сходство наблюдается и с представителями рода *Chrysomphalina*, от которых *P. ectypoides* отличается амилоидной реакцией спор, наличием пряжек и инкрустированных гиф кутикулы шляпки.

У собранных нами образцов размер плодовых тел значительно меньше, чем это описано у других авторов. Так, для образцов с Дальнего Востока указан размер шляпки до 12 см в диаметре, ножка до 8 см длиной и до 1 см толщиной (Vasilyeva, 1973). У образцов из Южной Сибири диаметр шляпки варьирует от 4 до 4,5 см, ножка до 5,5 см длиной и до 0,9 см толщиной (Malysheva et al., 2022). Наши же образцы из Республики Коми имели диаметр шляпки, не превышающий 3 см, и ножку до 3 см длиной и до 0,5 см толщиной.

Таким образом, находки *P. ectypoides* в европейской части России свидетельствуют о более широком ареале вида на территории Евразии, чем считалось ранее. С высокой долей вероятности можно предположить, что вид распространен намного шире в Сибири и, возможно, европейской части России, но ввиду его редкости упускается при сборах или смешивается с морфологически схожими видами.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН «Оценка эколого-ценотического, видового и популяционного разнообразия растительного мира ключевых особо охраняемых природных территорий Республики Коми» № 122040600026-9.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Gardes M., Bruns T. D.** 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molec. Ecol.* 2(2): 113–118. DOI: 10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x
- Horak E.** 1971. A contribution towards the revision of the Agaricales (fungi) from New Zealand. *New Zealand J. Bot.* 9: 403–462.
- Katoh K., Rozewicki J., Yamada K. D.** 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20(4): 1160–1166. DOI: 10.1093/bib/bbx108

Kirk P. M., Cannon P. F., Minter D. W., Stalpers J. A. 2008. *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). Wallingford, UK: CAB International. 566 pp.

Krom I. Y., Ageev D. V., Kapitonov V. I. 2024. *Pseudoarmillariella ectypoides*. In: *Griby Sibiri [Fungi of Siberia]*. URL: <https://mycology.su/pseudoarmillariella-ectypoides.html> (Accessed 02 February 2024).

Lodge D. J., Padamsee M., Matheny P. B., Aime M. C., Sharon A., Cantrell S. A., et al. 2014. Molecular phylogeny, morphology, pigment chemistry and ecology in Hygrophoraceae (Agaricales). *Fungal Diversity* 64: 1–99. DOI: 10.1007/s13225-013-0259-0

Malysheva E. F., Kiyashko A. A., Malysheva V. F., Shikalova E. A. 2022. A survey of rare species of agaricoid fungi (Basidiomycota) from South Siberia, Russia. *Turczaninowia* 25, 1: 52–72. DOI: 10.14258/turczaninowia.25.1.6

Malysheva V. F., Malysheva E. F., Kiyashko A. A., Kovalenko A. E., Psurtseva N. V., Fedosova A. G., Volobuev S. V., Popov E. S., Vassilyev N. A., Sonnikova A. E. 2017. *Griby i mxi Sayano-Shushenskogo zapovednika. Konspekt flory [Fungi and mosses of Sayano-Shushensky Reserve. Flora synopsis]*. Shushenskoye. 173 pp. [In Russian] (**Мальшиева В. Ф., Мальшиева Е. Ф., Кияшко А. А., Коваленко А. Е., Псурцева Н. В., Федосова А. Г., Волобуев С. В., Попов Е. С., Васильев Н. А., Сонникова А. Е., Филипова И. П.** Грибы и мхи Саяно-Шушенского заповедника. Конспект флоры. Шушенское, 2017. 173 с.).

Mueller G. M., Bills G. F., Foster M. S. 2004. *Biodiversity of Fungi, inventory and monitoring methods*. Watham: Elsevier Academic Press. 777 pp.

Norvell L. L., Redhead S. A., Ammirati J. F. 1994. *Omphalina* sensu lato in North America 1–2. 1: *Omphalina* wynnianae and the genus *Chrysomphalina*. 2: *Omphalina* sensu Bigelow. *Mycotaxon* 50: 379–407.

Palamarchuk M. A. 2009. Agaricoid basidiomycetes of the Pechoro-Ilych reserve and adjoining territory. II. Foot-hill area. *Mikologiya i fitopatologiya* 43, 2: 125–134. [In Russian] (**Паламарчук М. А.** Агарикоидные базидиомицеты Печоро-Илычского заповедника и прилегающей территории. II. Предгорный район // Микология и фитопатология, 2009. Т. 43, вып. 2. С. 125–134).

Palamarchuk M. A., Kirillov D. V., Shadrin D. M. 2021. Morphology and molecular data of the species of *Suillus* (Suillaceae, Boletales) associated with *Pinus sibirica* at the European northeast of Russia. *Phytotaxa* 490, 1: 018–034. DOI: 10.11646/phytotaxa.490.1.2

Palamarchuk M. A., Kirillov D. V., Shadrin D. M. 2022. *Lactarius kauffmanii* (Russulales, Russulaceae) – first record in Europe. *Mikologiya i fitopatologiya* 56, 3: 171–177. [In Russian] (**Паламарчук М. А., Кириллов Д. В., Шадрин Д. М.** *Lactarius kauffmanii* (Russulales, Russulaceae) – первая находка в Европе // Микология и фитопатология, 2022. Т. 56, вып. 3. С. 171–177). DOI: 10.31857/S0026364822030084

Pseudoarmillariella ectypoides (Peck) Singer. 2023. In: GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2024-02-29. URL: <https://www.gbif.org/species/2531561>

Singer R. 1986. *The Agaricales in modern taxonomy*. 4th ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books. 981 pp.

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molec. Biol. Evol.* 38: 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120

Vasilyeva L. N. 1973. *Agarikovyye shlyapochnyye griby (por. Agaricales) Primorskogo kraya [Mushrooms (Agaricales) of the Primorye Territory]*. Leningrad: Nauka. 331 pp. [in Russian] (**Васильева Л. Н.** Агариковые шляпочные грибы (пор. Agaricales) Приморского края. Л.: Наука, 1973. 331 с.).