

**Гербарии как хранители биоразнообразия и их использование (обзор)**

© 2023. Л. И. Домрачева<sup>1,2</sup>, д. б. н., профессор, А. Л. Ковина<sup>2</sup>, к. б. н., доцент, А. И. Коротких<sup>2</sup>, аспирант, С. Г. Скугорева<sup>1</sup>, к. б. н., н. с., Т. Я. Ашихмина<sup>1,3</sup>, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,  
<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра  
 Уральского отделения Российской академии наук,  
 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,  
<sup>2</sup>Вятский государственный агротехнологический университет,  
 610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,  
<sup>3</sup>Вятский государственный университет,  
 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,  
 e-mail: dli-alga@mail.ru

В обзоре представлены данные об истории возникновения гербариев и фунгариев, их разнообразии и использовании. Показано, что помимо традиционного значения данных объектов для изучения систематики, морфологии, распространения растений и грибов, появились новые направления, обусловленные достижениями современной науки: молекулярно-генетическим подходом, генотипированием и секвенированием нового поколения. Это позволяет выявлять молекулярные основы фенотипической изменчивости, устойчивости к стрессовым воздействиям, создавать банки ДНК, интегрированные с гербарными коллекциями.

Сохранившийся микробный пул высушенных образцов даёт возможность выделения в чистую культуру представителей микробиоты, перспективных в биотехнологическом аспекте: в целях биомониторинга, в создании биопрепаратов направленного действия против возбудителей болезней растений.

Старинные гербарные образцы позволяют изучить пути миграции, расселения растений по континентам и экспансии эпифитотий. Анализ химического состава гербарных образцов показывает, что содержание веществ и их биологическая активность у многих растений практически не изменяется за длительный срок хранения в высушенном состоянии. При этом в изученных образцах сохраняются как полезные биологически активные вещества, так и токсины.

**Ключевые слова:** гербарий, растения, грибы, эпифитная и ризосферная микробиота.

**Herbariums as custodians of biodiversity and their use (review)**

© 2023. L. I. Domracheva<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0002-7104-3337  
 A. L. Kovina<sup>2</sup> ORCID: 0000-0003-0503-3402, A. I. Korotkikh<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-0700-371X,  
 S. G. Skugoreva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-5902-5187, T. Ya. Ashikhmina<sup>1,3</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047  
<sup>1</sup>Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch  
 of the Russian Academy of Sciences,  
 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,  
<sup>2</sup>Vyatka State Agrotechnological University,  
 133, Oktyabrskiy Prospekt, Kirov, Russia, 610017,  
<sup>3</sup>Vyatka State University,  
 36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,  
 e-mail: dli-alga@mail.ru

The review presents data on the history of herbariums and fungariums, their diversity and use. It is shown that in addition to the traditional value of these objects for studying the systematics, morphology, distribution of plants and fungi, new scientific directions have emerged due to the achievements of modern science such as molecular genetic approach, genotyping, next generation sequencing. This allows identifying the molecular basis of phenotypic variability, resistance to stress, create DNA banks integrated with herbarium collections.

The surviving microbial pool of herbarium samples makes it possible to isolate into a pure culture representatives of the microbiota, promising in the biotechnological aspect: for biomonitoring purposes, to create biological products of directed action against plant pathogens.

Antique herbarium specimens make it possible to study the ways of migration and dispersal of plants across continents as well as expansion of epiphytotes. Analysis of the chemical composition of herbarium samples shows that the content of substances and their biological activity in many plants practically does not change over a long storage period in a dried state. At the same time, both useful biologically active substances and toxins are preserved in the studied herbarium specimens.

**Keywords:** herbarium, plants, fungi, epiphytic and rhizospheric microbiota.

Гербарии представляют собой естественные исторические коллекции, хранилища биоразнообразия, являясь центральным звеном ботанических знаний на протяжении уже более 500 лет [1–3]. Гербарии, первоначально создаваемые с целью изучения растений и хранения образцов для ботанических исследований, в настоящее время имеют полифункциональное значение, связанное с внедрением современных молекулярно-генетических методов исследования, которые оказались пригодными не только для живых организмов, но и для посмертной инвентаризации состава ДНК высушенных объектов [4, 5]. С этой точки зрения, гербарии, возраст которых колеблется от нескольких лет до нескольких сотен лет, – настоящий источник самых разнообразных открытий, связанных не только с морфолого-анатомическими и филогенетическими особенностями самих высушенных образцов (растений и грибов), но и с возможностью получения образцов микробиоты, сохранившейся на различных органах растений, на мицелии и плодовых телах грибов [6].

В старинных гербарных образцах сохраняется пул микробов, когда-то обитавших в относительно чистых экотопах, и поэтому представляющий определённый интерес для исследования их биотехнологических возможностей. Неоднократно доказана способность бактерий, микроскопических водорослей и грибов длительное время сохранять жизнеспособность, находясь в высушенном состоянии в гербарных экземплярах [7, 8].

Вследствие этого гербарные образцы представляют существенный интерес для изучения морфологического, экологического, генетического разнообразия и сопоставления особенностей современных растений, грибов и их отдалённых предков [9–12].

Цель работы – анализ литературных источников, посвящённых истории возникновения и роли гербариев в развитии науки, а также использованию гербарных образцов как источников выделения микроорганизмов,

обладающих биотехнологически ценными свойствами.

### Объекты и методы исследования

При написании обзора использованы литературные источники с 1976 по 2023 гг. из базы данных научной электронной библиотеки. Обсуждаются и анализируются публикации ведущих отечественных и зарубежных учёных-исследователей, посвящённые истории возникновения и роли гербариев в развитии науки, использованию гербарных образцов как источников выделения микроорганизмов, обладающих биотехнологически ценными свойствами. Поиск источников проводили при помощи систем Яндекс и Google, а также на сайте eLIBRARY.RU по поисковым запросам: «гербарии», «фунгарии», «высшие растения», «водоросли», «микромитозы», «макромитозы», «геномный анализ», «секвенирование нового поколения».

### Краткая история создания гербариев. Объекты гербаризации

Гербарии начали составлять более 500 лет назад. В настоящее время описано свыше 3500 научных гербариев, где собрано около 390 млн образцов, представленных высшими растениями, лишайниками, водорослями и грибами [5, 13]. Кроме того, гербарии имеются практически в каждом колледже, университете и ряде школ, где изучают ботанику.

Традиционно гербарии используются в систематике и таксономии при описании и классификации растений и для ботанической экспертизы при идентификации растительных образцов [3]. В настоящее время использование гербариев предполагает новые направления: определение геномной последовательности, фенотипирование, биогеографию, возникшие эволюционные и экологические изменения, популяционную генетику [14]. Гербарные образцы, являясь источником

биологического материала (листьев, цветков, плодов, семян, корней), позволяют определить вариативность в расселении растений спустя определённое время, а также изучить редкие виды, таксоны, которые в настоящее время невозможно обнаружить в природе [15–17]. С развитием ДНК-технологий гербарный материал успешно используется в молекулярной филогении для целей систематики, в реконструкции филогеографического мирового распространения видов [18].

Ещё одним путём использования гербариев являются археботанические и палеонтологические исследования, в ходе которых предварительно, много лет назад собранные растения, сравнивают с современными представителями флоры [19].

Не случайно в последние годы опубликована серия статей о путях использования гербарного материала, основанная на геномном секвенировании, с помощью которого выявляются механизмы изменчивости видов и их адаптации к меняющимся условиям, особенности биоразнообразия растений в пространстве и во времени [20–23].

Для того, чтобы гербарий имел научную ценность, необходимо наличие полноценных, правильно собранных, обработанных определённым образом и оформленных по соответствующей форме этикирования образцов, которые должны быть долговечным, легко читаемым информативным документом [24].

Анализ литературных источников показывает, что гербарии разных стран включают различное количество образцов и создавались в течение многих лет. Список крупнейших гербарных коллекций мира приведён в обзоре [13], в частности, он включает Королевский ботанический сад в Великобритании (8,5 млн образцов), Национальный музей естественной истории во Франции (около 8 млн образцов), Нью-Йоркский ботанический сад в США (более 7,8 млн образцов), Ботанический институт им. В.Л. Комарова в Санкт-Петербурге (Россия, 6 млн образцов), Центр биоразнообразия в Нидерландах (5 млн листов). В России официально зарегистрировано более 170 гербариев, из них старейший принадлежит МГУ и насчитывает более 1 млн образцов [25].

Существуют и другие авторитетные гербарные коллекции, например, один из старейших гербариев в Каталонии насчитывает 1618 листов высушенных растений, сбор которых начинался ещё в начале XVII века [26].

Гербарные образцы, собранные и хранящиеся в течение сотен лет, несут информацию

о глобальных изменениях в природе, особенностях распространения и обитания растений, их фенологических и функциональных особенностях [27–31]. Гербарии позволяют отслеживать нежелательные изменения во флоре, связанные с исчезновением отдельных видов в течение прошедшего столетия и начале нового, для обеспечения возможностей восстановления этого биоразнообразия, как, например, гербарии, находящиеся в Зимбабве [32].

Гербарии, собранные до начала XX века, принято считать историческими.

Использование правильно этикированных гербарных растений позволяет решать многие вопросы, связанные с археэкологией, окультуриванием растений, совместной динамикой изменения растений и окружающей среды [33]. Возрастающие объёмы гербарного материала, наряду с возрастанием их оцифровки, дают возможность секвенирования ДНК из высушенных растений, которая становится источником более глубокого понимания глобальных экологических изменений. При исследовании в хронологическом аспекте глобальных изменений с использованием гербарных образцов можно, по крайней мере, выявить их реакцию на четыре основных источника подобных изменений: поллютанты, изменение окружающей среды, климатические измерения, влияние инвазивных видов и, в принципе рассматривать коллекционные образцы как своеобразные «окна» в эволюционные процессы [34, 35].

Так, влияние поллютантов (тяжёлых металлов, технического азота, увеличение концентрации диоксида углерода) на растения по исследованию гербарных образцов проанализировано в ряде работ [36–39]. Показано, например, увеличение концентрации тяжёлых металлов в гербарных образцах по мере увеличения концентрации этих элементов в экотопках. При этом комбинированное загрязнение приводит к генетическим изменениям и в то же время, к повышению адаптационных возможностей растений. Увеличение дозы применяемых минеральных азотных удобрений с 1960 г. показало особую чувствительность бактериального населения корневой и прикорневой зоны. Увеличение концентрации CO<sub>2</sub>, связанное со сжиганием ископаемого топлива, приводит к морфологическим изменениям, например, таким, как снижение плотности устьиц на листьях [37].

Помимо поллютантов, урбанизация и модернизированное сельское хозяйство стано-

влятся причиной потерь, фрагментации и изменения естественной среды обитания живых организмов. На уровне гербарных растений это приводит к сокращению видового разнообразия на конкретной территории [40]. Одним из таких примеров является исчезновение женьшеня американского (*Panax quinquefolius*) в результате вырубленных массивов и интенсивного сбора растений диких популяций на территории США [41]. Другим примером воздействия внешних факторов в историческом аспекте на растения является отсутствие поллиниаторов у свежеробаризированных растений, выявленное при сравнении гербарных образцов семейства Орхидные (*Pterygodium catholicum*) [42]. Поллиниаторы, представляющие склеенные комочки пыльцы, играют особую положительную роль в размножении растений этого семейства.

Изменение климата в сторону потепления проявляется в модификации жизненных циклов растений и при этом установлено, что у растений, собранных в одинаковые сроки, происходит более раннее цветение и созревание плодов [23,43].

Ещё одной причиной изменения видового разнообразия на определённой территории, которое можно выявить по гербарным образцам, является инвазия чужеземных видов, чаще всего сознательно или бессознательно спровоцированная человеком [44].

Один из примеров реконструкции состояния болот Центральной Европы за длительный период – изучение гербаризованного мха рода *Sphagnum*, собранного за период 1918–1998 гг. [45]. Изменение химического состава воды, происходящее под влиянием различных антропогенных факторов, определяли по диатомовым водорослям, попавшим в гербарий вместе со сфагнумом. Установлено, что, начиная с 90-х годов XX века, происходит существенное изменение видового состава диатомовых водорослей и смена доминантов.

Кроме того, гербаризированные растения рассматриваются и в аспекте их взаимоотношений с микробиомом, который играет важнейшую роль в их жизни, физиологии и биохимии, в ответе растений на абиотические и биотические факторы, стрессовые ситуации, распространение в определённых ареалах. Поэтому параллельно изучению гербаризированных растений проводится и тщательное изучение их сохранившейся микробиоты [46–49].

При этом особую роль играет изучение фитопатогенов, так как наши знания

о темпах распространении болезней растений, специфике во взаимоотношениях с растением-хозяином всё ещё сильно отстают от запросов сельского хозяйства [50]. Гербарные же образцы позволяют сравнивать распространение болезней в диких популяциях и у культурных растений, что даёт возможность в определённой степени моделировать трансмиссию патогенов [51]. Поэтому неоднократно проводились исследования взаимоотношений «дикое растение – патогенная система» с привлечением гербарных коллекций [52–55].

### Фунгариумы – микологические гербарии

Грибы – представители особого царства природы. Известно около 70000 видов. Однако число известных видов всё ещё существенно отстаёт от имеющихся оценок предполагаемого видового разнообразия грибов, достигающего 1–5 млн видов, т. е. более, чем в 60 раз, по сравнению с описанным [56, 57].

Полагают, что микология должна быть независимой от ботаники, микробиологии и зоологии как особое направление науки [58, 59]. В настоящее время по степени изученности грибы относятся к одному из наименее исследованных царств живой природы, что затрудняет оценку их биоразнообразия и, следовательно, мероприятий по их сохранению [60].

Коллекционные образцы высушенных грибов называются фунгариумы. Это название появилось сравнительно недавно, в 2010 г. [61]. Термин предложили для обозначения части гербарных коллекций, содержащих грибы. Некоторые фунгариумы насчитывают 50000–1250000 экземпляров [62].

Фунгариумы как часть законсервированного материала существуют в различных странах: Германии [62], России [57], США [63]. В России один из самых первых фунгариумов микро- и макромицетов был создан в 1918 г. в Воронежском университете как часть гербария им. Б.М. Козо-Полянского, который является важной базой для таких разнотипных исследований, как изучение систематики, изменчивости морфологии, ареалов макромицетов, экологии и трофической приуроченности видов [64]. При этом микологическая коллекция представлена 1100 видами (более 3500 тысяч образцов).

В литературе также подробно описываются микологические коллекции Югорского

государственного университета [65] и Чувашского национального музея [66], Центрального Сибирского ботанического сада СО РАН [67], Ботанического института им. В.Л. Комарова в г. Санкт-Петербурге [68].

Сохраняются не только фунгариумы прошлых лет, но они постоянно обновляются и создаются новые. Например, в 2003 г. заложили коллекцию нелихенизированных грибов в Государственном музее природы в г. Карлсруэ (Германия), которая насчитывает более 45000 образцов [62]. В данном случае значение коллекции связывают с возможностью частых заимствований для исследовательских проектов, связанных с морфологией и таксономией, молекулярной таксономией, филогенией и экологией.

Подобные микологические коллекции, как и обычные гербарии, – неисчерпаемый источник генетического материала, так как в них содержатся образцы со значительным количеством неизвестных или недостаточно изученных филогенетических линий [57]. Изучение представителей фунгариумов позволяет постоянно проводить обновление классификации филумов Fungi и Mucoromycetes. Данные коллекции выступают в качестве основных носителей ДНК для изучения биоразнообразия, филогении, таксономии, филогеографии грибов [63].

Подходы, применяемые при изучении фунгариумных микро- и макромицетов, первоначально опирались только на традиционные морфологические описания и их фенотипические характеристики [69]. Подобные методы систематики были общепринятыми, использовались и используются до сих пор при изучении грибов [70].

В настоящее время, помимо морфологических приёмов, используется совокупность методов, которые включают, кроме фенотипических характеристик, генотипические, физиологические, хемотаксономические [70]. Так, геномный подход стал основой пересмотра принадлежности к определённому виду отдельных представителей микобиоты.

Наличие в фунгариумах не только сапрофитов, но и паразитов, даёт возможность изучения эволюции патогенов, изменения их пищевой предпочтительности, особенно с использованием методов выделения ДНК из коллекционных образцов [71].

Детальное исследование фунгариумных паразитов проводится во Всероссийском НИИ защиты растений, где имеется коллекция фомоидных грибов, паразитирующих

на растениях семейства Астровые, образцы которой были собраны на территории России и стран бывшего СССР с 1895 по 1960 гг. Самый старый образец на момент исследования имел возраст 124 года [71]. В данной работе было показано, что в результате длительного хранения морфологические структуры в большинстве случаев разрушаются, что не позволило получить достоверную информацию для корректной идентификации грибов. В то же время с помощью молекулярно-генетических методов, основанных на методе полимерной цепной реакции (ПЦР), стало возможным определить до рода 9 образцов из 18 и столько же до уровня вида. Видовая идентификация по молекулярным маркерам и морфологическим признакам совпала только для 124-летнего образца *Boeremia exigua*, который является на настоящий момент самым старым в мире образцом фомоидного гриба, ДНК которого была успешно выделена и амплифицирована.

Особое место в гербариях и, соответственно, в фунгариумах принадлежит микоризным грибам. Известно, что подземные сообщества, особенно грибные симбионты, играют важную роль в ответах экосистемы на глобальные изменения факторов внешней среды: повышение температуры, концентрации атмосферного CO<sub>2</sub>, влажности, почвенной кислотности, содержания минеральных элементов в почве [72–77].

Отсутствие исторических обоснованных данных ограничивает понимание длительной реакции подземных сообществ на глобальные изменения. Этот пробел как раз могут восполнить гербарные образцы, обеспечивающие необходимое понимание происходящих генетических изменений, например, на уровне арбускулярной микоризы, для чего необходимо извлечение ДНК, которую экстрагируют из заражённых корней растений [63]. Это тем более важно, что арбускулярные микоризные грибы заражают до 74% лесных растений [78]. В частности, для её извлечения используются образцы различных видов растений и различного гербарного срока хранения. Так, одно из наиболее детальных исследований было проведено с четырьмя видами лесных растений: ариземой трёхлистной (*Arisaema triphyllum*), майником кистистым (*Maianthemum racemosum*), триллиумом прямостоячим (*Trillium erectum*) и триллиумом крупноцветковым (*T. grandiflorum*), гербаризированных на территории западной Пельсивании (США) в период с 1881 по 2008 гг. [63]. Из 48 исследованных фунгариумных микоризо-арбускулярных

грибов удалось извлечь ДНК у 21 образца, т. е. в 44% случаев, и они существенно отличались друг от друга у разных видов растений. Однако внутри одного вида растений таких различий в ДНК грибов у проб, отобранных в различные годы, не выявлено.

Таким образом, в ходе проведённых исследований была доказана возможность извлечения грибной ДНК из высушенных образцов длительного срока хранения (до 137 лет). Эти результаты предполагают утилитарное использование гербарных образцов для ретроспективного анализа корневых грибных симбионтов и для более детального исследования в будущем при определении возможных генетических изменений в организмах под влиянием природных и антропогенных факторов.

Помимо арбускулярной микобиоты, большую роль в жизни растений играют эндофитные грибы, которые очень часто можно обнаружить в листовых тканях у большинства обследованных растений, очень часто без видимых признаков болезни [79, 80]. Более того, постепенно всё более положительно оценивают роль эндофитных грибов в смягчении для растений неблагоприятных факторов внешней среды [81–85]. Обилие и видовое разнообразие эндофитных грибов обеспечивает возможность изучения в динамике экологии грибов и растений в меняющемся мире [86]. Однако об исторической связи и специфике подобных растительно-грибных ассоциаций эндофитных грибов с растениями известно пока сравнительно мало.

Изучение эндофитной микобиоты с привлечением трёх методов анализа (культурального, клонирования и секвенирования) проводили с использованием таких представителей бореальной биоты, как розмарин болотный (*Andromeda polifolia*) и багульник болотный (*Ledum palustre*) [87]. Было исследовано наличие эндофитных грибов, которые бессимптомно могут находиться в листовых тканях растений в свежих гербарных образцах и образцах четырёхлетней давности. Применяемые методики позволяли отделять эндофитные грибы от поверхностных. Было показано, что культуральный метод самый неэффективный для выделения грибов-эндофитов. В то же время методы клонирования и особенно секвенирования обеспечивают максимальное извлечение эндофитных грибов из исследуемых растительных тканей, и гербарные образцы весьма перспективны для изучения различных особенностей экологии как грибов, так и растений в историческом аспекте [87].

Рассматриваются три направления подобных исследований. Первое направление связано с изучением биоразнообразия эндофитных грибов в гербариях различного срока давности с растениями из различных местообитаний. Второе направление обусловлено тем, что в данной работе исследовали только два вида растений с максимальным четырёхлетним сроком гербаризации. Поэтому в дальнейшем авторы предполагают исследовать подобные растительно-грибные ассоциации гербариев предыдущих лет. И третье направление обусловлено необходимостью более строгого контроля за состоянием эндофитной микрофлоры живых растений и гербарных образцов.

Таким образом, наличие специфических высушенных коллекций грибов, получивших название фунгариумы, представляет огромную ценность в изучении грибов прошлых эпох и нашего времени в самых различных аспектах.

### Геномный анализ гербарных и фунгариумных образцов

Современный уровень молекулярно-генетических подходов (генотипирование, секвенирование и др.) даёт возможность анализировать огромное количество растительных образцов для выявления полиморфизма, молекулярных основ фенотипической изменчивости, устойчивости к стрессовым воздействиям различных факторов внешней среды и, в конечном итоге, к созданию банков ДНК, интегрированных с гербарными коллекциями [88].

Любой высушенный растительный, грибной или бактериальный материал определённое количество лет сохраняет целостно или частично тот генофонд, который в предыдущие столетия и десятилетия не был востребован. Разработка и применение метода выделения ДНК из гербарных образцов значительно увеличило ценность гербариев как источника материала для установления молекулярной филогении данных объектов [89]. Благодаря новым технологиям извлечения ДНК, особенно с использованием высокопроизводительных методов секвенирования нового поколения (NGS) гербарии и фунгариумы становятся интересным объектом и для генетических исследований, пока ещё недостаточно оценённым. Это даёт возможность использования старинных гербариев и современных сборов для различных целей, например, для сравнения генотипа одних и тех же раститель-

ных популяций, сборы которых проводились в различные исторические периоды, но в одних и тех же локациях [18]. Включение исторических гербарных образцов в генетический анализ позволяет также лучше оценить изменения в параметрах нуклеотидных последовательностей [90].

Современные технологии позволяют выделять целые молекулы ДНК или(и) их фрагменты, которые сохраняются в гербарном материале неопределённо долгое количество лет. Методики выделения ДНК постоянно совершенствуются. Это приводит к тому, что даже сильная фрагментация молекул нуклеиновой кислоты не становится препятствием для получения определённого количества генетического материала, с помощью которого можно решить многочисленные задачи.

Однако при извлечении генетического материала необходимо учитывать, что в гербарных образцах содержится ДНК не только растений, но также грибов и бактерий. Эти микробы могут быть прижизненными патогенами растений или ассоциированными с ними в ходе симбиотических отношений, а также появляться при постмортальной колонизации, осуществляя разложение растений, или попадающие в ходе подготовки образцов к хранению. В одном из исследований при определении метагеномного профиля таких растений, как амброзия полыннолистная (*Ambrosia artemisiifolia*) и резуховидка Таля (*Arabidopsis thaliana*) 180-летнего срока хранения по ДНК удалось идентифицировать и представителей микробиоты, включая гриб *Alternaria alternata*, чья доля в секвенированном материале доходила до 7% [18]. В целом, гербарные образцы арабидопсиса и амброзии содержали значительно меньше эндогенной ДНК, чем свежие образцы, что, вероятно, связано с включением в геномный контент микробной ДНК. Из метагеномного профиля при изучении всех образцов была выявлена принадлежность ДНК к 205 различным видам. К сожалению, определить время контаминации растений данным грибом (т. е. прижизненное сожительство или попадание в процессе подготовки образцов к хранению или непосредственно при хранении), не удалось. В то же время молекулярно-генетические исследования сопряжены с рядом методических трудностей, связанных с тем, что изменения ДНК могут быть вызваны различными причинами и факторами, связанными как с гербаризацией растений, так и с длительностью их хранения [13].

Ещё одно исследование по амброзии с привлечением метаданных 1200 гербарных образцов, собранных во Франции и в других европейских странах, показало время появления этого сорняка в Европе и пути его интродукции, связанные с завозом из США в конце XIX века [91]. Историю интродукции батата (*Ipomoea batatas*) изучали путём сравнения 1245 гербарных современных и старинных образцов, собранных с XVII до начала XIX веков в различных частях Южной и Центральной Америки и Океании, включая Полинезию [92]. Геномный анализ исторических гербариев показал, что интродукция батата в Полинезию из Южной Америки произошла ещё в доколумбовские времена.

Историю интродукции картофеля (*Solanum tuberosum*) в Европу восстановили по изучению его гербарных образцов из 11 европейских гербариев, собранных с 1700 по 1910 гг., и было установлено, из каких регионов Южной Америки он был завезён [93].

Особое значение исторические гербарии имеют для изучения совместной эволюции растений и патогенов, часто становящихся причиной эпифитотий [94]. Исследования патогенов на гербарных образцах, собранных в разных регионах и в разные периоды, помогает устанавливать пути распространения инфекций. Так, например, было проведено детальное исследование *Phytophthora infestans*, начиная с гербарного образца картофеля 1845 г., т. е. времени первой эпифитотии фитофтороза в Северной Европе. При этом удалось выявить различающиеся геномы штаммов фитофторы, сохранившихся на исторических гербарных образцах и штаммов из современных изолятов патогена.

Однако, несмотря на успехи молекулярно-генетического подхода к изучению гербарных образцов, возникает ряд методических трудностей, на которых акцентируется внимание в обзоре [13]. Среди подобных трудностей авторы обзора выделяют следующие. В тканях гербарных образцов возможны деструктивные процессы, ведущие к фрагментации молекул ДНК и к различным повреждениям, ингибирующим работу ферментов-полимераз. При этом существуют разные причины изменения ДНК на первых и последующих стадиях гербаризации. Гербаризация вызывает гибель клеток, связанную с обезвоживанием и повышенной температурой, что и становится одной из причин фрагментации ДНК. При гербаризации и в процессе хранения часто производится обработка различными веществами, порой

смесью этанола и метанола, формалином, хлороформом, что также приводит к деградации ДНК. Степень деградации ДНК определяется возрастом гербарных образцов.

Подобные сложные моменты удаётся преодолевать с привлечением методов секвенирования нового поколения (NGS), поскольку при данном методе используются в качестве матрицы не протяжённые интактные молекулы ДНК, а её короткие фрагменты.

NGS-анализ гербарной ДНК в настоящее время начинают использовать для изучения генетической структуры популяций, изменения дрейфа генов внутри популяции, решения спорных вопросов филогении растений разных семейств [13].

### Микробиота гербарных образцов и перспективы её использования

Микроорганизмы, связанные при жизни растения с его надземной и подземной частями, формирующие микробиоту филлосферы, в определённых количествах сохраняются и при высушивании растений на гербарных образцах. Хотя большинство микроорганизмов гибнет в процессе сушки растений при гербаризации, все-таки некоторые их виды (особенно спорообразующие бактерии), сорбируясь на подходящих носителях, способны сохранять свою жизнеспособность [95, 96].

Большое разнообразие микробиоты живых растений и сохранившейся при высушивании несёт определённую информацию об эволюции и биогеографии, а также специфике растительно-микробных ассоциаций [97–99]. Изучение и выделение гербарных микроорганизмов позволяет также устанавливать их филогенетическое и функциональное разнообразие в аспекте фенологических факторов и факторов временного изменения условий внешней среды [100, 101].

В последние десятилетия получила распространение теория холобионта, которая рассматривает многоклеточное растение как единицу биологической организации: многоклеточное растение и его микробиота (вирусы, археи, бактерии, грибы, протисты, ассоциированные с данным растением в данное время) [95, 102]. Микробы могут быть ткане- или органоспецифическими, живущими на поверхности или в тканях растительных органов, включая фитопатогенов [50].

При выделении подобных микроорганизмов используются различные приёмы, в том числе классические методы посева смывов

с гербарных образцов на селективные питательные среды. Подобная методика позволяет одновременно определить численность микроорганизмов на единицу гербарной массы или гербарной площади (например, листьев или таллома водорослей), а также проводить определение и выделение в чистую культуру отдельных видов, сравнить численность эпифитной и ризосферной микрофлоры высших растений.

В частности, была проведена серия работ по определению состава и численности микроорганизмов гербарных образцов морских водорослей и высших растений, гербаризированных в конце XIX – начале XX веков, которые сохранились на кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятского ГАТУ [103–105].

Так, установлено, что жизнеспособные клетки бактерий-аммонификаторов сохранились на поверхности всех изучаемых бурых водорослей (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata*). Среди выделенных бактерий явное доминирование принадлежит представителям р. *Bacillus*, в частности, *B. mesentericus*.

Серии аналогичных опытов были проведены с растениями из семейства Ranunculaceae (Лютиковые), собранных и гербаризированных в 1899 г.: прострел раскрытый (*Pulsatilla patens*), лютик ядовитый (*Ranunculus sceleratus*), лютик золотистый (*R. auricomus*). В пределах одного семейства наблюдается существенный разброс в количественном обилии различных физиологических групп микробов. Наименее обильна ризосферная микрофлора прострела, наиболее – лютика ядовитого. В ризосфере лютика ядовитого доминировали микромицеты (свыше 87% от общей численности микробов), прострела раскрытого – аммонификаторы (более 70%), лютика золотистого – азотфиксаторы (55%).

Определение численности эпифитной и ризосферной микробиоты проводили также, используя гербарные образцы птицемлечника зонтичного (*Ornithogalum umbellatum*), подлесника европейского (*Sanicula europaea*), гвоздики (*Dianthus*). Полученные результаты оказались ниже тех, которые обычно наблюдаются при учёте численности микроорганизмов со свежееизъятых из почвы растений. Численность эпифитной микробиоты у трёх видов гербарных образцов различных семейств оказалась примерно одинаковой. Для эпифитных группировок у разных растений наблюдается три варианта структурной организации: па-



ритетное представительство бактерий и грибов у птицемлечника зонтичного (50%), доминирование грибов у подлесника европейского (61%) и доминирование бактерий у гвоздики (61%) [103–105].

Для ризосферной микробиоты разброс численности бактерий оказался существенно выше, чем у эпифитов. Максимальная численность отмечена для ризосферной микробиоты птицемлечника зонтичного, а минимальная численность наблюдалась у гвоздики. У ризосферных микроорганизмов в структуре популяции птицемлечника зонтичного наблюдается самое массовое развитие бактерий (78%) по сравнению с микромицетами (22%), с абсолютным преобладанием бактерий рода *Bacillus*. Преобладание бактерий характерно и для гвоздики (67%). У подлесника европейского одинаковое представительство бактерий и грибов (50%), преимущественно р. *Trichoderma*.

Микробы, входящие в состав «дремлющей» микробиоты гербариев и выделенные в чистую культуру, можно использовать в нескольких направлениях: изучать как давние компоненты над- и подземных органов растений; проводить сравнение с современной эпифитной и ризосферной микробиотой; использовать в качестве тест-организмов на определённые поллютанты, включая новые, которые появились сравнительно недавно и которых не было в момент сбора растений и формирования из них гербария; а также изучить их антагонистические возможности против различных видов патогенов.

Так, культуры бацилл (*Bacillus mesentericus* и *Bacillus* sp.) из образцов бурых водорослей использовали для определения токсичности такого синтетического поверхностно-активного вещества (СПАВ), как лаурил сульфат натрия (ЛСН) [106]. Внесение ЛСН в питательную среду привело к резкому снижению численности бацилл. Сила угнетающего эффекта ЛСН на оба штамма бацилл увеличивалась с увеличением концентрации поллютанта: для *B. mesentericus* в 407 раз в варианте при внесении 2 расчётных доз (р. д.) и для *Bacillus* sp. в 19,6 раз при 0,5 р. д. Полное прекращение роста бацилл наблюдалось при 4 р. д. для *B. mesentericus*. Чувствительность *Bacillus* sp. к данному поллютанту была намного сильнее: полное подавление роста наступало уже при 1 р. д. ЛСН. Таким образом, поддержание в музейной культуре данных штаммов бацилл позволит успешно использовать их как тест-организмы на различные виды СПАВ, в состав которых входит ЛСН.

В литературе описаны и другие многочисленные примеры практического использования гербарной микробиоты. Микробные сообщества или отдельные виды микроорганизмов, изолированные с гербарных образцов, позволяют манипулировать с ними, в определённой степени используя их в сельскохозяйственной практике, создавая препараты, заменяющие, в частности, пестициды. Так, различные виды грибов рода *Trichoderma* обладают ингибирующей активностью в отношении фитопатогенных грибов, а также антимикробной активностью, что служит основанием использования различных видов триходермы в биотехнологии для выпуска биопрепаратов (триходермин, трихозан, глиокадин), используемых в сельскохозяйственной практике как биопестициды для предотвращения инфекционных заболеваний [107].

Показана высокая степень антагонистической активности гриба *Trichoderma* sp., выделенного из ризосферной почвы лютика ядовитого (*Ranunculus celeratus*) по отношению к фитопатогенным грибам *Fusarium culmorum* и *F. oxysporum*, вследствие чего данный штамм триходермы в перспективе может служить ингибитором развития фузариозов [108, 109].

Гербарии являются ещё и источником патогенных микроорганизмов, например, фитофторы, выделенной с корней гербаризированных образцов картофеля [94, 110], что позволяет более глубоко и подробно изучать коэволюцию патогенов и их хозяев.

Образцы инфицированных цитрусовых привели к выявлению путей распространения рака этих растений, вызванных *Xanthomonas axonopodis* [111]. Данное заболевание с середины XIX века отмечали в Индии и на Яве, затем произошло распространение патогена в Саудовскую Аравию, Иран, Флориду. По историческим гербарным образцам установлены как географическое распространение, так и генетическая изменчивость.

Не только микробиота гербариев представляет интерес в биотехнологическом плане. Так, определяли антагонистическую активность тропической лианы *Combretum erythrophllum* из коллекционных образцов 92-летнего возраста и сравнивали с вытяжками из свежих листьев [112]. Испытания проводили на культурах бактерий *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas auruginosa*. Было показано, что состав химических компонентов и их биологическая активность практически не изменились за столетний период нахождения комбретума

в высушенном состоянии. Подобное исследование гербарного материала может быть полезным для скрининга растений со стабильной биологической активностью компонентов или для создания научной базы использования растений в традиционной медицине. Поиски альтернативных методов подавления патогенных микроорганизмов становятся всё более актуальными в связи с постоянно возрастающей устойчивостью микробов к применяемым антибиотикам. В частности, поиск эффективных антимикробных веществ, извлекаемых даже из гербарных образцов, приближает наступление постантибиотиковой эры.

Подобная антимикробная активность и сохранность биохимических компонентов обнаружена также у гербарных образцов базилика американского (*Ocimum americanum*) [113]. Водные, ацетоновые, этилацетатные и метаноловые экстракты базилика применяли против нескольких видов бактерий и микромицетов: *Bacillus cereus*, *Clostridium penfringens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Candida albicans* и *Aspergillus niger*. Во всех случаях отмечали высокую антагонистическую активность базиликовых экстрактов против всех тестируемых микроорганизмов. Химический анализ гербарных образцов выявил в них наличие алкалоидов, стероидов, сапонинов, флавоноидов, танинов, терпенов, фенольных компонентов, сердечных гликозидов. Таким образом, *Ocimum americanum* можно рассматривать как потенциальный источник биологически активных веществ, подавляющих развитие патогенов, в качестве альтернативы антибиотикам.

Интересные исследования были проведены по изучению биохимического состава четырёх видов грибов (высушенных и свежих) *Kuehnmomyces mutabilis*, *K. lignicola*, *Hypholoma carpoides*, *H. fascioclare* [114]. Идентифицировали 25 метаболитов, при этом не было найдено существенных различий между высушенными и свежими образцами грибов различных возрастов. Основное отличие было только в содержании таких кислот, как фумаровая и малоновая, которые преобладали в свежих грибах. Общее содержание жиров и аминокислот было несколько выше в высушенных образцах.

Однако в гербарных образцах сохраняются не только полезные биологически активные вещества, но и токсины. В 87% исследованных образцов гербарных цианобактерий, собранных в период с 1839 по 1950 гг., был обнаружен токсин микроцистин и выделен ген, ответ-

ственный за его синтез [115]. Таким образом, старинные коллекции высушенных образцов различных видов токсинообразующих цианобактерий служат потенциальным ресурсом для изучения исторического и географического их распространения и использования архивных цианобактерий для ретроспективного анализа экотоксикологических локаций данных организмов.

## Заключение

Мировые коллекции растений и грибов (гербарии и фунгарии), создаваемые с XVI века, являются большим научным достоянием. Они включают десятки миллионов образцов растений и грибов различных семейств, родов и видов вместе с микробиотой (бактериями и грибами), обитающей на их поверхности, а также с микробами-эндофитами и микробами-паразитами.

Большая ценность гербариев и фунгариев заключается и в том, что они позволяют изучать биогеографию, возникшие эволюционные и экологические изменения, популяционную генетику растений и грибов. На примере сохранившихся гербарных образцов возможно устанавливать климатические изменения, изменения химического состава воды и почвы, действие поллютантов, антропогенные преобразования природных экосистем. Появление геномного анализа привело к выделению из гербарных образцов целых молекул ДНК или их фрагментов, которые также позволяют решить задачи возникновения и распространения по континентам отдельных видов растений и распространение эпифитотий.

Выделенные из гербарных образцов микроорганизмы служат источником тест-организмов и основой биопрепаратов многофункционального действия.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Структура и состояние компонентов техногенных экосистем подзоны южной тайги», номер государственной регистрации в ЕГИСУ № 122040100032-5.*

## References

1. Rivers M., Taylor L., Brummitt N., Meagher T., Roberts D., Lughadh E. How many herbarium specimens are needed to detect threatened species? // Biol. Conserv. 2011. V. 144. No. 10. P. 2541–2547. doi: 10.1016/j.biocon.2011.07.014

2. Nualart N., Ibanez N., Lague P., Pedrol Y., Vilar L., Guardia R. Dataset of herbarium specimens of threatened vascular plants in Catalonia // *PhytoKeys*. 2017. V. 77. P. 41–62. doi: 10.3897/phytokeys.77.11542
3. Besnard G., Gaudeul M., Lavergne S., Muller S., Rouhan G., Sukhorukov A., Vanderpoorten A., Jabbour F. Herbarium-based science in the twenty-first century // *Botany Letters*. 2018. V. 165. No. 3–4. P. 323–327. doi: 10.1080/23818107.2018.1482783
4. Bakker F., Bieker V., Martin M. Editorial: herbarium collection-based plant evolutionary genetics and genomics // *Front. Ecol. Evol.* 2020. V. 8. Article No. 603948. doi: 10.3389/fevo.2020.603948
5. Index herbarium: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [Internet resource] <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/> (Accessed: 16.02.2023).
6. Heberling J., Burke D. Utilizing herbarium specimens to quantify historical mycorrhizal communities // *Appl Plant Sci*. 2019. V. 7. Article No. e01223. doi: 10.1002/aps3.1223
7. Shtina E.A., Gollerbakh M.M. Soil algae ecology. Moskva: Nauka, 1976. 143 p. (in Russian).
8. Domracheva L.I., Kovina A.L., Malinina A.I., Vakhmyanina S.A., Sheshegova T.K. Ancient herbariums as a source of “sleeping” microflora // Soil reclamation for sustainable development of agriculture: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 100-letiyu so dnya rozhdeniya professora A.F. Timofeeva. Part 1. Kirov: Vyatka State Agricultural Academy, 2019. P. 149–156 (in Russian).
9. Wandeler P., Hoeck P.E., Keller L.F. Back to the future: museum specimens in population genetics // *Trends in Ecology & Evolution*. 2007. V. 22. No. 12. P. 634–642. doi: 10.1016/j.tree.2007.08.017
10. Pyke G., Ehrlich P. Biological collections and ecological/environmental research: a review, some observations and a look to the future // *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2010. V. 85. No. 2. P. 247–66. doi: 10.1111/j.1469-185X.2009.00098
11. Burns K.C., Herold N., Wallace B. Evolutionary size changes in plants of the south-west Pacific // *Global Ecology & Biogeography*. 2012. V. 21. No. 8. P. 819–828. doi: 10.1111/j.1466-8238.2011.00730.x
12. Primack D., Imbres C., Primack R., Miller-Rushing A., Del Tredici P. Herbarium specimens demonstrate earlier flowering times in response to warming in Boston // *American Journal of Botany*. 2004. V. 91. No. 8. P. 1260–1264. doi: 10.3732/ajb.91.8.1260
13. Fomina N.A., Antonova O.Yu., Chukhina I.G., Gavrilenko T.A. Herbarium collections in molecular genetic research // *Turczaninowia*. 2019. V. 22. No. 4. P. 104–118 (in Russian). doi: 10.14258/turczaninowia.22.4.12
14. Funk V. 100 Uses for a herbarium (well and least 72) // *American Society of Plant Taxonomists Newsletter*. 2003. V. 17. No. 2. P. 17–19.
15. Mason H.J., Isaak B.L. Herbarium specimens as exaptations: new uses for old collections // *American Journal of Botany*. 2017. V. 104. No. 7. P. 963–965. doi: 10.3732/ajb.1700125
16. Joye D.A., Castella E., Lachvanne J.B. Occurrence of Characeae in Switzerland over the last two centuries (1800–2000) // *Aquatic Botany*. 2002. V. 72. No. 3. P. 369–385. doi: 10.1016/S0304-3770(01)00211-x
17. Van de Paer C., Hong-Wa C., Jeziorski C., Besnard G. Mitogenomics of *Hesperelaea*, an extinct genus of Oleaceae // *Gene*. 2016. V. 594. No. 2. P. 197–202. doi: 10.1016/j.gene.2016.09.007
18. Bieker V.C., Martin M.D. Implications and future prospects for evolutionary analyses of DNA in historical herbarium collections // *Botany Letters*. 2018. V. 165. No. 3–4. P. 409–418. doi: 10.1080/23818107.2018.1458651
19. Fuller D.Q., Murphy C. The origin and early dispersal of horsegram (*Macrotyloma uniflorum*), a major crop of Ancient India // *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2018. V. 65. No. 1. P. 285–305. doi: 10.1007/s10722-017-0532-2
20. Corney D., Clark J.Y., Tang H.L., Wilkim P. Automatic extraction of leaf characters from herbarium specimens // *Taxon*. 2012. V. 61. No. 1. P. 231–244. doi: 10.1002/tax.611016
21. Lavoie C. Biological collections in an ever changing world: herbaria as tools for biogeographical and environmental studies // *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 2013. V. 15. No. 1. P. 68–76. doi: 10.1016/j.ppees.2012.10.002
22. Meineke E.K., Davis C.C., Davies T.J. The unrealized potential of herbaria for global change biology // *Ecological Monographs*. 2018. V. 88. No. 4. P. 505–525. doi: 10.1002/ecm.1307
23. Willis C., Ellwood E., Primack R., Davis C., Pearson K.D., Gallinat A.S., Yost J.M., Nelson G., Mazer S.J., Rossington N.L., Sparks T.H., Soltis P.S. Old plants, new tricks: phenological research using herbarium specimens // *Trends. Ecol. Evol.* 2017. V. 32. No. 7. P. 531–546. doi: 10.1016/j.tree.2017.03.015
24. Skvortsov A.K. Herbarium. A guide to methodology and technology. Moskva: Nauka, 1977. 199 p. (in Russian).
25. Gureeva I.I. The size and distribution of the Russian herbarium fund // Problems of studying the vegetation cover of Siberia: Materialy IV Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 125-letiyu Gerbariya im. P.N. Krylova Tomskogo gosudarstvennogo universiteta i 160-letiyu so dnya rozhdeniya P.N. Krylova. Tomsk: Tomsk University Press, 2010. P. 16–18 (in Russian).
26. Nualart N., Ibanez N., Luque P., Pedrol J., Vilar L., Guardia R. Dataset of herbarium specimens of threatened vascular plants in Catalonia // *PhytoKeys*. 2017. V. 77. No. 2. P. 41–62. doi: 10.3897/phytokeys.77.11542
27. Bolmgren K., Lönnberg K. Herbarium data reveal an association between fleshy fruit type and earlier flowering time // *International Journal of Plant Sciences*. 2005. V. 166. No. 4. P. 663–670. doi: 10.1086/430097
28. Loiselle B., Jørgensen P., Consiglio T., Blake J.G., Lohmann L.G., Montiel O.M. Predicting species distri-

butions from herbarium collections: does climate bias in collection sampling influence model outcomes? // *Journal Biogeography*. 2008. V. 35. No. 1. P. 105–116. doi: 10.1111/j.13652699.2007.01779.x

29. Feeley K.Y., Silman M.R. The data void in modeling current and future distributions of tropical species // *Global Change Biology*. 2011. V. 17. No. 1. P. 626–630. doi: 10.1111/j.1365-2486.2010.02239.x

30. Park I. Digital herbarium archives as a spatially extensive, taxonomically discriminate phenological record; a comparison to MODIS satellite imagery // *Int J Biometeorol*. 2012. V. 56. P. 1179–1182. doi: 10.1007/s00484-012-0521-2

31. Lavole C. Biological collections in an ever changing world: Herbaria as tools for biogeographical and environmental studies // *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*. 2013. V. 15. No. 1. P. 68–76. doi: 10.1016/j.ppees.2012.10.002

32. Maroyi A. Traditional uses of wild and tended plants in maintaining ecosystem services in agricultural landscapes of the Eastern Cape Province in South Africa // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2022. V. 18. No. 1. P. 1–20. doi: 10.1186/s13002-022-00512-0

33. Kistler L., Vanessa C., Martin M., Pedersen M., Madrigal J., Ancient N. Plant genomics in archaeology, herbaria, and the environment // *Annual Review of Plant Biology*. 2020. V. 71. P. 605–629. doi: 10.1146/annurev-arplant-081519-035837

34. Lang P., Willems F., Scheepens J., Burbano H., Bossdorf O. Using herbaria to study global environmental change // *New Phytologist*. 2019. V. 221. No. 1. P. 110–122. doi: 10.1111/nph.15401

35. Holmes M.W., Hammond T.T., Wogan G.O.U., Walsh R.E., LaBarbera K., Wommack E.A., Martins F.M., Crawford Y.C., Mack K.L., Bloch L.M., Nachman M.W. Natural history collections as windows on evolutionary processes // *Molecular Ecology*. 2016. V. 25. No. 4. P. 864–881. doi: 10.1111/mec.13529

36. Rudin S.M., Murray D.W., Whitfield T.J.S. Retrospective analysis of heavy metal contamination in Rhode Island based on old and new herbarium specimens // *Applications in Plant Sciences*. 2017. V. 5. No. 1. Article No. 1600108. doi: 10.3732/apps.1600108

37. Arnold B.J., Lahner B., DaCosta J.M., Weisman C.M., Hollister J.D., Salt D.E., Bomblies K., Yant L. Borrowed alleles and convergence in serpentine adaptation // *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 2016. V. 113. No. 29. P. 8320–8325. doi: 10.1073/pnas.1600405113

38. Dynarski K., Houlton B. Nutrient limitation of terrestrial free-living nitrogen fixation // *New Phytol*. 2018. V. 217. No. 3. P. 1050–1061. doi: 10.1111/nph.14905

39. Pedicino L.C., Leavitt S.W., Betancourt Y.L., Van de Water P.K. Historical variations in  $\delta^{13}C_{LEAF}$  of herbarium specimens in the Southwestern U.S. // *Western North American Naturalist*. 2002. V. 62. No. 3. P. 348–359.

40. Hallingbäck T. The effect of air pollution on mosses in southern Sweden // *Biological Conservation*. 1992. V. 59. No. 2–3. P. 163–170. doi: 10.1016/0006-3207(92)90577-A

41. Case M.A., Flinn K.M., Jancaitis J., Alley A., Paxton A. Declining abundance of American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) documented by herbarium specimens // *Biological Conservation*. 2007. V. 134. No. 1. P. 22–30. doi: 10.1016/j.biocon.2006.07.018

42. Pauw A., Hawkins J.A. Reconstruction of historical pollination rates reveals linked declines of pollinators and plants // *Oikos*. 2011. V. 120. No. 3. P. 344–349. doi: 10.1111/j.1600-0706.2010.19039.x

43. Feeley K.Y., Hurtado Y., Saatchi S., Silman M.R., Clark D.B. Compositional shifts in Costa Rican forests to climate-driven species migrations // *Global Change Biology*. 2013. V. 19. No. 11. P. 3472–3480. doi: 10.1111/gcb.12300

44. Magona N., Richardson D.M., Le Roux J.J., Kritzinger-Klopper S., Wilson J.R.U. Even well-studied groups of alien species might be poorly inventoried: Australian Acacia species in South Africa as a case study // *NeoBiota*. 2018. V. 39. P. 1–29. doi: 10.3897/neobiota.39.23135

45. Pouličková A., Hájková P., Kintrová K., Bat'ková R., Czudková M., Hájek M. Tracing decadal environmental change in ombrotrophic bogs using diatoms from herbarium collections and transfer function // *Environ Pollut*. 2013. V. 179. P. 201–209. doi: 10.1016/j.envpol.2013.04.007

46. Müller D.B., Vogel C., Bai Y., Vorholt J.A. The plant microbiota: systems-level insights and perspectives // *Annu Rev Genet*. 2016. V. 50. P. 211–234. doi: 10.1146/annurev-genet-120215-034952

47. Busby P., Soman C., Wagner M., Friesen M., Kremer J., Bennett A., Dangl J. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture // *PLoS Biology*. 2017. V. 15. No. 3. Article No. e2001793. doi: 10.1371/journal.pbio.2001793

48. Finkel O., Castrillo G., Paredes S., Gonzalez I., Dangl J. Understanding and exploiting plant beneficial microbes // *Current Opinion in Plant Biology*. 2017. V. 38. P. 155–163. doi: 10.1016/j.pbi.2017.04.018

49. Knief C. Analysis of plant microbe interactions in the era of next generation sequencing technologies // *Front. Plant Sci*. 2014. V. 5. Article No. 216. doi: 10.3389/fpls.2014.00216

50. Kido A., Hood M.E. Mining new sources of natural history observations for disease interactions // *Am. J. Bot*. 2020. V. 107. No. 1. P. 3–11. doi: 10.1002/ajb2.1409

51. Bruns E.L., Antonovics J., Hood M.E. Is there a disease-free halo at species range limits? The codistribution of anther-smut disease and its host species // *Journal of Ecology*. 2018. V. 107. No. 19. P. 1–11. doi: 10.1111/1365-2745.13009

52. Ristaino J., Groves C., Parra G. PCR amplification of the Irish potato famine pathogen from historic specimens // *Nature*. 2001. V. 411. P. 695–697. doi: 10.1038/35079606

53. Li W., Brlansky R.H., Hartung J.S. Amplification of DNA of *Xanthomonas axonopodis* pv. citri from historic citrus canker herbarium specimens // *Journal of Microbiol Methods*. 2006. V. 65. No. 2. P. 237–246. doi: 10.1016/j.mimet.2005.07.014

54. Alexander H.M., Price S., Houser R., Finch D., Tourtellot M. Is there reduction in disease and pre-dispersal seed predation at the border of a host plant's range? Field and herbarium studies of *Carex blanda* // Journal of Ecology. 2007. V. 95. No. 3. P. 446–457. doi: 10.1111/j.1365-2745.2007.01228.x
55. Andrew C., Diez J., James T.Y., Kauserud H. Fungarium specimens: a largely untapped source in global change biology and beyond // Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2019. V. 374. No. 1763. Article No. 20170392. doi: 10.1098/rstb.2017.0392
56. Hawksworth D.L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections // Studies in Mycology. 2004. V. 50. No. 1. P. 9–18.
57. Volobuev S. Mycological collection of the Herbarium named after V.N. Khitrovo (ONHI) of the Oryol State University: traditional and modern approaches to organization // Uchonyye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Yestestvennyye, tekhnicheskiye i meditsinskiye nauki. 2010. No. 2. P. 105–110 (in Russian).
58. Hawksworth D. Mycobiota, mycota or funga? // Mycological Research. 2000. V. 104. Article No. 1283.
59. Hawksworth D. Monitoring and safeguarding fungal resources worldwide: the need for an international collaborative MycoAction Plan // Fungal Diversity. 2003. V. 13. P. 29–45.
60. Kovalenko A.E., Bondartseva M.A., Karatygin I.V., Melnik V.A., Novozhilov Yu.K., Popov E.S., Pystina K.S. The state of knowledge and assessment of the species diversity of fungi and myxomycetes in Russia // Fungi in natural and anthropogenic ecosystems: Trudy mezhdunarodnoy konferentsii, posvyashchennoy 100-letiyu nachala raboty profesora A.S. Bondartseva v Botanicheskom institute im. V.L. Komarova RAN. V. 1. Sankt-Petersburg: Boston Spectrum, 2005. P. 267–270 (in Russian). doi: 10.13140/2.1.1942.1127
61. Spooner B., Cannon P. World's largest collection of fungi held at Kew Gardens // Mycologist News. 2010. V. 1. P. 8–9.
62. Scholler M., Lutz M., Wood A.R., Hagedorn G., Mennicken M. Taxonomy and phylogeny of *Puccinia lagenophorae*: a study using rDNA sequence data, morphological and host range features // Mycological Progress. 2011. V. 10. P. 175–187. doi: 10.1007/s11557-010-0687-0
63. Heberling J., Burke D. Utilizing herbarium specimens to quantify historical mycorrhizal communities // Appl. Plant Sci. 2019. V. 7. No. 4. Article No. e01223. doi: 10.1002/aps3.1223
64. Melkumov G.M. Herbarium of macromycetes of the department of botany and mycology of Voronezh State University // Mycology and Phytopathology. 2018. V. 52. No. 3. P. 217–222 (in Russian).
65. Filippova N.V. The present state of the Yugra State University Fungarium // Ecological problems of the northern regions and ways to solve them: Tezisy dokladov VII Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoy 30-letiyu Instituta problem promyshlennoy ekologii Severa FITs KNTs RAN i 75-letiyu so dnya rozhdeniya doktora biologicheskikh nauk, professora V.V. Nikonova / Eds. E.A. Borovicheva, O.I. Vandysch. Apacity: Kola Science Center of the Russian Academy of Sciences, 2019. P. 270–272 (in Russian).
66. Davydova T.A., Yakovlev V.A., Mihecheva E.N. Mycological herbarium of the Chuvash National Museum, donated by F.V. Fedorov // Estestvennonauchnye issledovaniya v Chuvashii i sopredelnykh regionakh. 2023. No. 9. P. 150–162 (in Russian).
67. Naumenko Yu.V., Gorbunova I.A., Vlasenko V.A., Vlasenko A.V. Mycological herbarium of the Central Siberian Botanical Garden SB RAS. History and prospects of development // Rastitelnyy mir Aziatskoy Rossii: Vestnik Tsentralnogo sibirskogo botanicheskogo sada SO RAN. 2018. No. 1 (29). P. 100–104 (in Russian). doi: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-1(100-104)
68. Popov E.S. The types of fungal names published by Ch.G. Ehrenberg from A. von Chamisso's collection, and kept in the Mycological and Lichenological herbaria of the Komarov Botanical Institute (St. Petersburg, LE) // Novosti Sistematiki Nizshikh Rastenii. 2014. V. 48. P. 196–203. doi: 10.31111/nsnr/2014.48.196
69. Hawksworth D. Funga and fungarium // IMA Fungus. 2010. V. 1. Article No. 9. doi: 10.1007/BF03449321
70. Senanayake I.C., Pem D., Rathnayaka A.R., Wijesinghe S.N., Tibpromma S., Wanasinghe D.N., Phookamsak R., Kularathnage N.D., Gomdola D., Harishchandra D., Dissanayake L.S., Xiang M., Ekanayaka A.H., McKenzie E.H.C., Hyde K.D., Zhang H., Xie N. Predicting global numbers of teleomorphic ascomycetes // Fungal Diversity. 2022. V. 114. P. 1–42. doi: 10.1007/s13225-022-00504-1
71. Gomzhina M.M., Hannibal F.B. Isolation of DNA of pycnidial fungi-pathogens of plants from herbarium material // Modern solutions in the development of agricultural science and production: Mezhdunarodnyy sammit molodykh uchenykh. Krasnodar: IP Sinyaev Dmitry Nikolaevich, 2016. P. 24–27 (in Russian).
72. Allen M.F., Kitajima K., Hernandez R.R. Mycorrhizae and global change // Trees in a Changing Environment / Eds. M. Tausz, N. Grulke. Springer Science + Business Media Dordrecht, 2014. P. 37–59. doi: 10.1007/978-94-017-9100-7\_3
73. Egerton-Warburton L.M., Allen E. Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient // Ecological Applications. 2000. V. 10. No. 2. P. 484–496. doi: 10.1890/1051-0761(2000)010[0484:SI-AMCA] 2.0.CO;2
74. Treseder K.K. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO<sub>2</sub> in field studies // New Phytol. 2004. V. 164. No. 2. P. 347–355. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01159.x
75. Kivlin S.N., Emery S.M., Rudgers J.A. Fungal symbionts alter plant responses to global change // Am. J. Bot. 2013. V. 100. No. 7. P. 1445–1457. doi: 10.3732/ajb.1200558
76. Wolf J., Johnson N.C., Rowland D.L., Reich P.B. Elevated CO<sub>2</sub> and plant species richness impact arbuscular mycorrhizal fungal spore communities // New Phytol.

2003. V. 157. No. 3. P. 579–588. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00696.x

77. Bitsadze N., Beruashvili M., Pavliashvili K., Khazaradze R., Jorjadze A., Tchabashvili G., Shanidze S., Kobakhidze N. Main oak species and fungi associated with oak trees described in Georgian mycological herbarium // *Annals of Agrarian Science*. 2018. V. 16. No. 4. P. 432–435. doi: 10.1016/j.aasci.2018.06.004

78. Brundrett M. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis // *Plant and Soil*. 2009. V. 320. No. 1. P. 37–77. doi: 10.1007/s11104-008-9877-9

79. Rodriguez R.J., White J.F.Jr., Arnold A.E., Redman R.S. Fungal endophytes: diversity and functional roles // *New Phytol.* 2009. V. 182. No. 2. P. 314–330. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x

80. Petrini O. Fungal endophytes of tree leaves // *Microbial Ecology of Leaves* / Eds. J.H. Andrews, S.S. Hirano. New York: Springer-Verlag, 1991. P. 179–197. doi: 10.1007/978-1-4612-3168-4\_9

81. Bonos S.A., Wilson M.M., Meyer W.A., Funk C.R. Suppression of red thread in fine fescues through endophyte-mediated resistance // *Applied Turfgrass Science*. 2005. V. 2. No. 1. P. 1–7. doi: 10.1094/ATS-2005-0725-01-RS

82. Tanaka A., Tapper B.A., Popay A., Parker E.J., Scott B. A symbiosis expressed non-ribosomal peptide synthetase from a mutualistic fungal endophyte of perennial ryegrass confers protection to the symbiotum from insect herbivory // *Mol Microbiol.* 2005. V. 57. No. 4. P. 1036–1050. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04747.x

83. Clarke B.B., White J.F.Jr., Hurley R.H., Torres M.S., Sun S., Huff D.R. Endophyte-mediated suppression of dollar spot disease in fine fescues // *Plant Dis.* 2006. V. 90. No. 8. P. 994–998. doi: 10.1094/PD-90-0994

84. Busby P.E., Ridout M., Newcombe G. Fungal endophytes: modifiers of plant disease // *Plant Molecular Biology*. 2016. V. 90. No. 6. P. 645–655. doi: 10.1007/s11103-015-0412-0

85. Dastogeer K.M.G., Li H., Sivasithamparam K., Jones M., Wylie S. Fungal endophytes and a virus confer drought tolerance to *Nicotiana benthamiana* plants through modulating osmolytes, antioxidant enzymes and expression of host drought responsive genes // *Environmental and Experimental Botany*. 2018. V. 149. P. 95–108. doi: 10.1016/j.envexpbot.2018.02.009

86. Peay K.G., Baraloto C., Fine P.V.A. Strong coupling of plant and fungal community structure across western Amazonian rainforests // *The ISME Journal*. 2013. V. 7. No. 9. P. 1852–1861. doi: 10.1038/ismej.2013.66

87. Daru B.H., Kling M.M., Meineke E.K., van Wyk A.E. Herbarium records reveal early flowering in response to warming in the southern hemisphere // *bioRxiv*. 2018. P. 1–28. doi: 10.1101/432765

88. Ryabushkina N.A., Omasheva M.E., Galiakparov N.N. Specifics of DNA extraction from plant objects // *Biotekhnologiya. Teoriya i praktika*. 2012. No. 2. P. 9–26 (in Russian).

nologiya. Teoriya i praktika. 2012. No. 2. P. 9–26 (in Russian).

89. Geltman D.V., Novozhilov Yu.K. They will be forever young: herbariums are the basis of a modern integrative approach to solving problems of phylogenetics, taxonomy and the study of genetic resources of plants and fungi // *Genetic resources of Russia: Sbornik tezisov plenarnykh dokladov i Nauchnogo foruma*. Moskva: Pero, 2022. P. 18 (in Russian).

90. Gutaker R.M., Reiter E., Furtwangler A., Schuenemann V.J., Burbano H.A. Extraction of ultrashort DNA molecules from herbarium specimens // *BioTechniques*. 2017. V. 62. No. 2. P. 76–79. doi: 10.2144/000114517

91. Chauvel B., Dessaint F., Cardinal-Legrand C., Bretagnolle F. The historical spread of *Ambrosia artemisiifolia* L. in France from herbarium records // *Journal of Biogeography*. 2006. V. 33. No. 4. P. 665–673. doi: 10.1111/j.1365-2699.2005.01401.x

92. Roullier C., Benoit L., McKey D.B., Lebot V. Historical collections reveal patterns of diffusion of sweet potato in Oceania obscured by modern plant movements and recombination // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013. V. 110. No. 6. P. 2205–2210. doi: 10.1073/pnas.1211049110

93. Ames M., Spooner D.M. DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato // *American Journal of Botany*. 2008. V. 95. No. 2. P. 252–257. doi: 10.3732/ajb.95.2.252

94. Martin M.D., Cappellini E., Samaniego Y.A., Zepeda M.L., Campos P.F., Seguin-Orlando A., Wales N., Orlando L., Ho S.Y.W., Dietrich F.S. Reconstructing genome evolution in historic samples of the Irish potato famine pathogen // *Nature Communications*. 2013. V. 4. Article No. 2172. doi: 10.1038/ncomms3172

95. Bianciotto V., Selosse M.A., Martos F., Marmeisse R. Herbaria preserve plant microbiota responses to environmental changes // *Trends Plant Sci*. 2022. V. 27. No. 2. P. 120–123. doi: 10.1016/j.tplants.2021.11.012

96. Pokhilenko V.D., Baranov A.M., Detushev K.V. Methods for long-term storage of collection cultures of microorganisms and development trends // *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskiye nauki*. 2009. No. 4 (12). P. 99–121 (in Russian).

97. Coleman-Derr D., Desgarennes D., Fonseca-Garcia C., Gross S., Clingenpeel S., Woyke T., North G., Visel A., Martinez-Partida L.P., Tringe S.G. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave species* // *New Phytologist*. 2015. V. 209. No. 2. P. 798–811. doi: 10.1111/nph.13697

98. Almario J., Jeena G., Wunder J., Langen G., Zuccaro A., Coupland G., Bucher M. Root-associated fungal microbiota of nonmycorrhizal *Arabidopsis thaliana* and its contribution to plant phosphorus nutrition // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2017. V. 114. No. 44. P. E9403–E9412. doi: 10.1073/pnas.1710455114

99. Kembel S.W., O'Connor T.K., Arnold H.K., Hubbell S.P., Wright S.J., Green J.L. Relationships between phyllosphere

- bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2014. V. 111. No. 38. P. 13715–13720. doi: 10.1073/pnas.1216057111
100. Wagner M.R., Lundberg D.S., del Rio T.G., Tringe S.G., Dangl J.L., Mitchell-Olds T. Host genotype and age shape the leaf and root microbiomes of a wild perennial plant // Nat. Commun. 2016. V. 7. Article No. 12151. doi: 10.1038/ncomms12151
101. Fitzpatrick C.R., Copeland J., Wang P.W., Guttman D.S., Kotanen P.M., Johnson M.T.J. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2018. V. 115. No. 6. P. E1157–E1165. doi: 10.1073/pnas.1717617115
102. Domracheva L.I., Skugoreva S.G., Kovina A.L., Korotkikh A.I., Starikov P.A., Ashikhmina T.Ya. Specificity of plant-microbial complexes under anthropogenic soil pollution (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2022. No. 3. P. 14–25 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-014-025
103. Domracheva L.I., Kovina A.L., Simakova V.S., Berg A.A. Herbarium samples of brown algae and *Nostoc commune* biofilms as carriers of microflora // Ecology of the native land: problems and ways to solve them: Materialy XIII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii c mezhdunarodnym uchastiyem. Book 2. Kirov: Vyatka State University, 2018. P. 27–29 (in Russian).
104. Kovina A.L., Domracheva L.I., Malinina A.I. 120-year preservation of the rhizosphere microflora of herbarium specimens of plants of the family Ranunculaceae (Ranunculaceae) // Biodiagnostics of the state of natural and natural-technogenic systems: Materialy XVI Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii c mezhdunarodnym uchastiyem. Book 1. Kirov: Vyatka State University, 2018. P. 230–233 (in Russian).
105. Domracheva L.I., Kovina A.L., Malinina A.I. Ancient herbariums as a source of “sleeping” microflora // Soil reclamation for sustainable development of agriculture: Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 100-letiyu so dnya rozhdeniya professora A.F. Timofeyeva. Part 1. Kirov: Vyatka State Agricultural Academy, 2019, P. 149–156 (in Russian).
106. Kondakova L.V., Domracheva L.I., Ashikhmina T.Ya., Simakova V.S. Biomonitoring capabilities of microorganisms when assessing the degree of toxicity of synthetic surfactants // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 4. P. 93–98 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-4-093-098
107. Gneusheva I.A., Pavlovskaya N.E., Yakovleva I.V. Biological activity of fungi of the genus *Trichoderma* and their industrial application // Vestnik OrelGAU. 2010. No. 3 (24). P. 36–39 (in Russian).
108. Domracheva L.I., Kovina A.L., Malinina A.I., Lyukina A.L. Antimicrobial activity of the micromycete *Trichoderma* sp., isolated from the rhizospheric soil of the poisonous ranunculus (*Ranunculus sceleratus*) // Ecology of the native land: problems and ways to solve them: Materialy XIV Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem. Kirov: Vyatka State University, 2019. P. 217–219 (in Russian).
109. Domracheva L.I., Kovina A.L. Testing the antagonistic activity of micromycetes of ancient herbarium specimens // Microorganisms and soil fertility: Materialy I Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchennoy 90-letiyu so dnya rozhdeniya professora E.M. Pankratovoy. Kirov: Vyatka State Agrrotechnological University, 2022. P. 31–33 (in Russian).
110. Yoshida K., Schuenemann V.J., Cano L.M., Pais M., Mishra B., Sharma R., Lanz C., Martin F.N., Kamoun S., Krause J., Thines M., Weigel D., Burbano H.A. The rise and fall of the *Phytophthora infestans* lineage that triggered the Irish potato famine // eLife. 2013. V. 28. No. 2. Article No. 00731. doi: 10.7554/eLife.00731
111. Li W., Song Q., Brlansky R.H., Hartung J.S. Genetic diversity of citrus bacterial canker pathogens preserved in herbarium specimens // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007. V. 104. No. 47. P. 18427–18432. doi: 10.1073/pnas.0705590104
112. Eloff J.N. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants // Journal of Ethnopharmacology. 1999. V. 67. No. 3. P. 355–360. doi: 10.1016/S0378-8741(99)00053-7
113. Vidhya E., Vijayakumar S., Rajalakshmi S., Kalaiselvi S., Pandiyan P. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Ocimum americanum* L. extracts against pathogenic microorganisms // Acta Ecologica Sinica. 2020. V. 40. No. 3. P. 214–220. doi: 10.1016/j.chnaes.2019.09.001
114. Jafari T., Alanne A.L., Issakainen J., Pihlaja K., Sinkkonen J. Suitability of dried herbarium specimens for NMR metabolomics of mushrooms. A comparison of four species of the genera *Kuehneromyces* and *Hypholoma* (Strophariaceae) // Fungal Biol. 2018. V. 122. No. 2–3. P. 138–146. doi: 10.1016/j.funbio.2017.11.007
115. Metcalf J., Beattie K., Purdie E.L., Bryant J.A., Irvine L.M., Codd G.A. Analysis of microcystins and microcystin genes in 60–170-year-old dried herbarium specimens of cyanobacteria // Harmful Algae. 2012. V. 15. No. 6. P. 47–52. doi: 10.1016/j.hal.2011.11.004