

ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С *NUPHAR LUTEA* (L.) SMITH, В р. КОТОРОСЛЬ (ЯРОСЛАВЛЬ, РОССИЯ)

Л. В. Воронин *

Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского

150000 Ярославль, ул. Республиканская, 108/1, e-mail: *voroninfungi@mail.ru

Поступила в редакцию 4.09.2023

Исследования микобиоты листьев кубышки желтой в приустьевой части реки Которосль, расположенной в центре крупного города, показали, что комплексы грибов филлопланы формируются и состоят из небольшого числа относительно константных видов и большего числа временных. Грибы и грибоподобные организмы во всех случаях становятся участниками первичных этапов деградации отмерших листьев. Это некоторые обитатели комплексов филлопланы, способные переключиться на питание тканями листа, и новые колонизаторы, жизненный цикл которых полностью происходит в воде. Антропогенное воздействие на реку влияет на видовой состав, а главное – на интенсивность роста и прохождения полного жизненного цикла микодеструкторов.

Ключевые слова: микобиота филлопланы, деструкторы, *Nuphar lutea*, антропогенное воздействие.

DOI: 10.47021/0320-3557-2023-23-27

ВВЕДЕНИЕ

Грибы филлопланы, т.е. обитающие на поверхности листьев и использующие в качестве источника питания их прижизненные выделения – аминокислоты, углеводы, ауксины и другие соединения, составляют особую экологическую группу [Alexander, 1971]. Видовой состав и структура комплексов грибов филлопланы разнообразных наземных растений исследовались довольно многочисленно, как и влияние различных загрязнителей на численность грибов и разнообразие грибов филлопланы. Это позволяет использовать данные показатели при оценке состояния экосистем [Воронин, 2010; Зеленская и др., 2017 (Voronin, 2010; Zelenskaya et al., 2017)]. Микобиота филлопланы высших водных растений изучалась лишь отрывочно в тропической зоне [El-Sharouny, 1988], исследования носили прикладной характер для поиска пато-

генных грибов и использования их в борьбе с зарастанием водоемов [Воронин, 2010 (Voronin, 2010)]. Мы начали изучать микобиоту филлопланы и деструкторов широко распространенного гидрофита кубышки желтой *Nuphar lutea* (L.) Smith в озерах Вологодской области (Дарвинский заповедник и Верхне-Судский бассейн), а также в малых реках бассейна Рыбинского водохранилища [Воронин, 2010а; Воронин, Черняковская, 2010 (Voronin, 2010а; Voronin, Tschernyakovskaya, 2010)]. Полученные результаты будут использованы при обсуждении результатов, изложенных в данной статье. Цель исследования – установить особенности микобиоты кубышки (филлопланы и отмерших листьев) в нижнем течении реки, испытывающей большую антропогенную нагрузку, на территории крупного промышленного города.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в устьевом участке р. Которосль, в центре г. Ярославля, примерно в 500 м от впадения в Волгу (при подпоре Горьковского водохранилища), в 2–3 м от правого берега, ширина реки около 60 м. Река Которосль относится к малым рекам, т.к. длина реки 132 км, площадь речного бассейна 6370 км² средний расход 40.13 м³/с. [Рохмистров, 2004 (Rokhmistrov, 2004)]. Вода по химическому составу относится к гидрокарбонатному классу и кальциевой группе. Минерализация речной воды в половодье около 100 мг/л, в период летней межени – 350–400 мг/л. Многие участки реки загрязнены. Устьевой участок р. Которосли находится под воздействием сбросов промышленных предприятий. В настоящее время вода оценивается как грязная. Основные загрязняющие веще-

ства: железо общее, медь, фенолы и др., основными причинами загрязнения воды р. Которосль органическими веществами, нитратами, фенолами, железом являются: недостаточная очистка сточных вод промышленными и сельскохозяйственными предприятиями, наличие большого числа нерегулируемых стоков частных домохозяйств, СНТ и дачных кооперативов, отсутствие очистки городских и промышленных ливневых стоков [Соколов, 2023 (Sokolov, 2023)].

Отбор проб проводили в июне и сентябре 2006 г., мае, июле, сентябре, октябре 2007 г., июне, июле, августе 2021 г. Обработку производили в день отбора. При исследовании микобиоты филлопланы живых листьев обработку проб производили методом отпечатков фрагментов листа площадью 1 см², которые

вырезали стерильным инструментом на одинаковом расстоянии от центральной жилки и края листа, получали отпечаток с обеих сторон листа по отдельности на агаризованной питательной среде (из овсяных хлопьев и среде Чапека) в чашках Петри в пяти повторностях [Литвинов, Дудка, (Litvinov, Dudka 1975)]. Через 3–7 сут инкубации при комнатной температуре производили подсчет колоний и идентификацию грибов во временных препаратах. Рассчитывали среднюю арифметическую численность КОЕ (колониеобразующих единиц) на 1 см² площади листа, этот же показатель рассчитывали для каждого вида (рода) отдельно. Кроме того, рассчитывали коэффициенты сходства микобиоты верхней и нижней поверхности листьев Серенсена-Чекановского [Зайцев, 1991 (Zaycev, 1991)], критерии досто-

верности разности Стюдента и Фишера [Шмидт, 1980 (Shmidt, 1980)]. Отмершие (механически отделенные от растения летом и естественно отмершие осенью) листья кубышки тщательно промывали водопроводной, а затем дистиллированной водой, помещали в чашки Петри со стерильной водой и инкубировали при комнатной температуре. Просмотр производили через 3, 5, 7, 16 и 30 сут, определяли общую заселенность субстрата грибами и частоту встречаемости каждого вида в процентах. Листья начального этапа деструкции, собранные 16 сентября 2006 г. и зафиксированные в 70%-ном спирте, послужили материалом для анатомических срезов с целью выявления грибов в тканях листа. Для дифференцировки грибов срезы окрашивали по методу Кобеля [Барыкина, 2004 (Barykina, 2004)].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Летом 2006–2007 годов в филлоплане кубышки было выявлено в среднем 17 ± 4.3 пропагул (КОЕ) на 1 см² верхней поверхности листьев и 48 ± 12.4 на нижней. Видовой состав очень бедный и однообразный, на обеих сторонах листьев среди мицелиальных грибов доминировал *Penicillium nigricans* (Bain) Thom (3.6 ± 2.15 и 24.6 ± 6.25 соответственно), содоминантом был *Trichoderma viride* Pers. (на обеих сторонах около 1.5 на 1 см²). К явным отличиям относилось довольно массовое присутствие дрожжеподобного гифомицета *Aureobasidium pullulans* (dBy) Hermanides-Nijhof (6.22 ± 2.78) на нижней стороне листа. Большую долю в структуре микобиоты занимали дрожжи. На верхней поверхности листа преобладали дрожжи рода *Cryptococcus* (8.8 ± 5.13), а на нижней – *Candida* (10.6 ± 2.07) и *Rhodotorula* (7.2 ± 0.73). На верхней поверхности листа доминантные дрожжи нижней поверхности встречались единично. Коэффициент сходства Серенсена-Чекановского для верхней и нижней поверхности листьев составил 60%, разность при этом недостоверна. Об этом свидетельствует минимальное видовое разнообразие и обычно единичная встречаемость некоторых видов мицелиальных грибов и дрожжей.

В конце июля 2021 г. в филлоплане листьев кубышки видовое разнообразие было больше, при этом в числе доминантов, как было около 15 лет назад, не выявлены виды рода *Penicillium*. Явными доминантами были кладоспории (*Cladosporium cladosporioides* (Fres.) De Vries., *C. herbarum* (Pers.) Link, *C. sphaerospermum* Preuss) – 44.8 ± 4.6 КОЕ, *Aureobasidium pullulans* (24.1 ± 4.9), содоминантами – фузарии (*Fusarium moniliforme* Sheldon, *F. sporotri-*

choides Shreb.) – 15.2 ± 6.4 . Кроме того, в комплексы микобиоты входили *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* van Tieghem (5.7 и 2.5 КОЕ на 1 см²). Дрожжи также присутствовали в микоконплексе филлопланы, как единичные колонии. Причина смены доминантов и в целом более богатый видовой состав, вероятно, связаны с очень жарким летом.

На листьях кувшинковых в Польше обращали внимание на болезненные признаки, из таких мест выделяли микромицеты [Mazurkiewicz-Zapałowicz, 2016]. С листьев *N. lutea* выделили 37 видов грибов. Три из них, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Fusarium sporotrichoides*, выявлены и в наших исследованиях, но никаких изменений и образований на листьях не наблюдали. Следовательно, некоторые микромицеты филлопланы могут быть патогенными для кубышки.

В озерах Вологодской области (6 в Дарвинском заповеднике и 6 Верхне-Судских) и малых реках бассейна Рыбинского водохранилища (Латка, Чеснава и Вая) в целом зафиксировано большое количество видов грибов в филлоплане. В разнотипных озерах Вологодской области выявлено 62 вида с явным преобладанием дейтеромицетов (53 вида), 54 вида в трех малых реках [Воронин, 2010, 2010a (Voronin, 2010, 2010a)]. Однако многие виды отмечены редко или единично. Следует отметить, что при подобных исследованиях мы разделяем грибы на три группы: основные (константные), непостоянные и случайные [Воронин, 2010 (Voronin, 2010)]. Видовой состав основных (константных) видов микобиоты филлопланы кубышки небольшой, соответствующий предлагаемому нами рассмотрению комплексов микобиоты филлопланы с позиций

теории островной биогеографии Мак-Артура [Воронин, 2010. 2010a (Voronin, 2010, 2010a)]. Для комплексов грибов на листьях кубышки характерно динамическое равновесие числа видов, существующее за счет процессов иммиграции и исчезновения видов. При этом происходит закрепление, или натурализация, более выносливых и эврибионтных видов [Воронин, 2010 (Voronin, 2010)].

Исследования отмерших листьев кубышки методом отпечатков в 2007 г. показали сохранение в микобиоте филлопланы основных доминантов, выполняющих теперь функцию деструкторов. На верхней поверхности листьев это *Penicillium nigricans* (6.4 ± 3.9) и дрожжи *Candida* (6.0 ± 2.2), *Cryptococcus* (3.0 ± 0.9), на нижней – с низкой массовостью

P. nigricans (1.8 ± 0.6), дрожжи рода *Candida* (3.4 ± 1.2) и в незначительном количестве рода *Rhodotorula*. Это подтверждает наши выводы о том, что большинство обитателей филлопланы, питающихся прижизненными выделениями растений, исчезают, а функцию деструкторов выполняют лишь немногие адаптированные виды филлопланы, это длится до значительного снижения температуры [Воронин, 2010; Воронин, Черняковская, 2010 (Voronin, 2010); Voronin, Chernyakovskaya, 2010)].

Для выявления грибов, истинно водных и адаптировавшихся к условиям водной среды, участвующих в деструкции листьев кубышки, интересные результаты дает использование метода накопительной культуры (см. таблицу).

Частота встречаемости (%) грибов и грибоподобных организмов на отмерших листьях *Nuphar lutea*, выявленных методом накопительной культуры

Frequency of occurrence (%) of fungi and fungal-like organisms on dead leaves of *Nuphar lutea* detected by accumulation culture

Виды грибов Species of Fungi	Май 2007 May 2007	Июнь 2006 June 2006	Июль 2007 July 2007	Сентябрь 2006 September 2006	Сентябрь 2007 September 2007	Октябрь 2007 October 2007
<i>Achlya</i> sp.	–	20.7	19.4	–	–	–
<i>Pythium undulatum</i> Petersen	–	–	–	–	–	25.9
<i>Saprolegnia diclina</i> Humph.	–	–	–	–	–	18.5
<i>S. ferax</i> (Gruith.) Thuret	24.1	13.8	25.8	18.2	29.4	–
<i>Heliscus submerses</i> Hudson	–	–	3.2	–	–	–
<i>Tricladium splendens</i> Ing.	–	–	12.9	–	–	–
<i>Acremonium</i> sp.	–	13.8	–	–	–	–
<i>Periconia</i> sp.	–	–	–	14.7	–	–
<i>Phoma glomerata</i> (Cda.) Wolenw. et Hochapf.	10.7	–	–	–	–	–
<i>P. nuphuris</i> Allesh.	–	–	–	–	6.1	11.1

Такой способ оказался возможным в течение длительного периода с мая до конца сентября, т.к. постоянно находились оторванные разлагающиеся листья из-за интенсивного механического воздействия лодок и плавсредств.

В деструкции листьев участвовали истинно водные грибоподобные оомицеты из сапрлегниевые, причем с мая до сентября часто был распространен лишь один вид – *Saprolegnia ferax*, сменившийся в октябре *S. diclina*. Осенью был выявлен и оомицет *Pythium undulatum*. Это подтверждает данные об увеличении распространения зооспоровых оомицетов при повышении концентрации растворенного органического вещества и снижении температуры [Voronin, 2008]. Следует обратить внимание на обнаружение двух анаморфных водных видов *Heliscus submerses* и *Tricladium splendens* (инголдиевых грибов), которые практически не встречаются на любых растительных суб-

стратах в мезотрофных, эвтрофных и загрязненных водах [Воронин, 1997 (Voronin, 1997)]. Терригенных видов было обнаружено немного. В пробах филлопланы живых листьев нами водные анаморфы не были обнаружены, но в озерах и малых реках изредка встречались [Воронин, 2010a (Voronin, 2010a)].

На окрашенном срезе листа от 16 сентября 2006 г. было видно, что часть тканей мацерирована, а гифы располагаются в межклеточном пространстве. Вероятнее всего это гифы *Periconia* sp. во время первого этапа деструкции листьев с помощью грибов, обладающих пектиназой, и сначала разрушающих межклеточное пространство.

При инкубировании отмерших листьев кубышки в воде в 2021 и для проверки в сентябре 2023 г. присутствовал на 90% фрагментов только слабо развитый стерильный мицелий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования микобиоты листьев кубышки желтой в приустьевой части р. Которосль, расположенной в центре крупного города, показали, что комплексы грибов филлопланы формируются и состоят из небольшого числа более или менее константных видов и большего числа временных. Подобные результаты были получены ранее в озерах на заповедной территории, в озерах и малых реках, не испытывающих сильного антропогенного влияния. Грибы и грибоподобные организмы во всех случаях становятся участниками пер-

вичных этапов деструкции отмерших листьев. Это некоторые обитатели комплексов филлопланы, способные переключиться на питание тканями листа, и новые колонизаторы, жизненный цикл которых полностью происходит в воде. Антропогенное воздействие на реку влияет на видовой состав, а главное – на интенсивность роста и протекание полного жизненного цикла микодеструкторов. Предстоит выяснить зависимость жизнедеятельности грибов от естественных и различных антропогенных факторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. М.: Изд-во МГУ, 2004. 312 с.
- Воронин Л.В. Водные и воздушно-водные гифомикеты в малых озерах окрестностей Воркуты // Микология и фитопатология. 1997. Т. 31. Вып. 2. С. 403–412.
- Воронин Л.В. Грибы филлопланы *Nuphar lutea* (L.) Smith в малых реках бассейна Рыбинского водохранилища // Ярославский педагогический вестник. 2010а. № 3. С. 91–95.
- Воронин Л.В. Микобиота малых озер тундровой и лесной зон: монография. Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2010. 156 с.
- Воронин Л.В., Черняковская Т.Ф. Сукцессии комплексов микроорганизмов на разлагающихся листьях *Nuphar lutea* в малой реке Латке // Ярославский педагогический вестник. 2010б. № 3. С. 87–91.
- Зайцев Г.Н. Математический анализ биологических данных. М.: Изд-во Наука, 1991. 183 с.
- Зеленская М.С., Сидельникова М.В., Панова Е.Г., Паутов А.А., Крылова Е.Г., Пагода Я.О., Власов Д.Ю. Грибы филлопланы в городской среде // Биосфера. 2017. Т. 9. № 2. С. 136–151. DOI: 10.24855/BIOSFERA.V9I2.353.
- Литвинов М.А., Дудка И.А. Методы исследования микроскопических грибов пресных и соленых (морских) водоемов. Л.: Изд-во Наука, 1975. 151 с.
- Рохмистров В.Л. Малые реки Ярославского Поволжья. Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2004. 50 с.
- Соколов Е.А. Оценка экологического состояния реки Которосль // Вестник науки. 2023. Т. 2. № 6(63). С. 817–837.
- Шмидт В.М. Статистические методы в сравнительной флористике. Л.: Изд-во ЛГУ, 1980. 176 с.
- Alexander M. Microbial ecology. New York: Acad. Press, 1971. 480 p.
- El-Sharouny H.M.M. Phyllosphere fungi of *Myriophyllum spicatum* growing in the Nile water of Egypt // Trop. Ecol. 1988. Vol. 29. № 2. P. 33–40.
- Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Golianek A., Łopusiewicz Ł. Microscopic fungi on Nymphaeaceae plants of the Lake Płociczno in Drawa National Park (NW Poland) // Acta Mycol. 2016. Vol. 51. № 1. P. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.5586/am.1079>.
- Voronin L.V. Zoospore Fungi in Freshwater Ecosystems // Inland Water Biology. 2008. Vol. 1. № 4. P. 341–346. DOI: 10.1134/S1995082908040056.

REFERENCES

- Alexander M. Microbial ecology. New York, Acad. Press, 1971. 480 p.
- Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G., Djalilova H.H., Ilyina G.M., Ghubatova N.V. Spravochnik pobotani-cheskoy microtekhnikе [Handbook of Botanical Microtechnics]. M., Publishing of Moscow State University, 2004. 312 p. (In Russian)
- El-Sharouny H.M.M. Phyllosphere fungi of *Myriophyllum spicatum* growing in the Nile water of Egypt. Trop. Ecol., 1988, vol. 29, no. 2, pp. 33–40.
- Litvinov M.A., Dudka I.A. Metody issledovaniya mikroskopicheskikh gribov presnyh i solenyyh (morskiy) vodoyemov [Methods of studying microscopic fungi of fresh and salty (sea) water bodies]. L., Nauka, 1975. 151 p. (In Russian)
- Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Golianek A., Łopusiewicz Ł. Microscopic fungi on Nymphaeaceae plants of the Lake Płociczno in Drawa National Park (NW Poland). Acta Mycol., 2016, vol. 51, no. 1, pp. 1–11. doi: <http://dx.doi.org/10.5586/am.1079>.
- Rokhmistrov V.L. Malye reki Yaroslavskogo Povol'ya [Small rivers of the Yaroslavl Volga region]. Yaroslavl, Publishing of YGPU, 2004. 50 p. (In Russian)
- Schmidt V.M. Statisticheskie metody v sravnitel'noy floristike [Statistical methods in comparative floristics]. L.: Publishing of Leningrad State University, 1980. 176 p. (In Russian)
- Sokolov E.A. Assessment of the ecological start of the Kotorosl River. Vestnik nauki, 2023, vol. 2, no. 63, pp. 817–837. (In Russian)
- Voronin L.V. Vodnye i vozdušno-vodnye gifomicety v malyyh ozerakh okrestnostey Vorkuty [Aquatic and aeroaquatic hyphomycetes in small lakes from Vorkuta vicinities]. Mikologiya i fitopatologiya, 1997, vol. 31, no. 2, pp. 9–17. (In Russian)

- Voronin L.V. Zoospore Fungi in Freshwater Ecosystems. *Inland Water Biology*, 2008, vol. 1, no. 4, pp. 341–346. doi: 10.1134/S1995082908040056.
- Voronin L.V. Mikrobiota malych ozer tundrovoy i lesnoy zon [Mycobiota of small lakes of tundra and forest zones]. Yaroslavl, Publishing of YGPU, 2010. 156 p. (In Russian)
- Voronin L.V. Griby filloplany *Nuphar lutea* (L.) Smith v malyh rekah basseyna Rybinskogo vodohranilisca [Phylloplane fungi *Nuphar lutea* (L.) Smith in minor rivers of Rybinsk water storage basin]. *Yaroslavskiy Pedagogicheskiy Vestnik*, 2010a, no. 3, pp. 91–95. (In Russian)
- Voronin L.V., Tschernyakovskaya T.F. Sukcessii kompleksov mikroorganizmov na razlagayushihsy listjah *Nuphar lutea* v maloy reke Latke [Microorganisms complexes successions in decaing leaves of *Nuphar lutea* in small river Latka]. *Yaroslavskiy Pedagogicheskiy Vestnik*, 2010b, no. 3, pp. 87–91. (In Russian)
- Zaycev G.N. Matematicheskiy analiz biologicheskikh dannyh [Matematical analysis of biological data]. M., Nauka, 1991. 183 p. (In Russian)
- Zelenskaya M.S., Sidelnikova M.V., Panova Ye.G., Pautov A.A., Krylova Ye.G., Pagoda Ya.O., Vlasov D.Yu. Griby Filloplany v gorodskoy srede [Phylloplane fungi in the urban environment]. *Biosfera*, 2017, vol. 9, no. 2, pp. 136–151. doi: 10.24855/BIOSFERA.V9I2.353.

FUNGI ASSOCIATED WITH *NUPHAR LUTEA* (L.) SMITH IN THE KOTOROSL RIVER (YAROSLAVL, RUSSIA)

L. V. Voronin *

*Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky
150000 Respublikanskaya, 108/1, Yaroslavl, Russia, e-mail: *voroninfungi@mail.ru
Revised 4.09.2023*

Studies of mycobiota of *Nuphar lutea* leaves in the estuary part of the Kotorosl River, located in the center of a large city, showed that phylloplane fungal complexes in 2006, 2007 and 2021 years form and consist of a small number of more or less constant species and a large number are temporary. Fungi and fungal-like organisms in all cases become participants in the primary stages of destructions of dead leaves. These are some inhabitants of phylloplane complexes, spotable to switch to feeding on leaf tissues, and new colonizers, the life cycle of which completely occurs in water in 2006 and 2007 years. In 2021 we found only poorly developed mycelium. Anthropogenic impact on the river affects the species composition, and most importantly – the intensity of grows and the passage of the full life cycle of micodestructors.

Keywords: phylloplane mycobiota, *Nuphar lutea*, destructors, anthropogenic impact