

БИОЛОГИЯ

Л.В. Воронин, Т.Ф. Черняковская

СУКЦЕССИИ КОМПЛЕКСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА РАЗЛАГАЮЩИХСЯ ЛИСТЬЯХ NUPHAR LUTEA В МАЛОЙ РЕКЕ ЛАТКЕ

Исследован характер сукцессий комплексов микромицетов и бактерий на разлагающихся листьях *Nuphar lutea* в проточной части и в старице умеренно-загрязненной эвтрофной малой реки Латка. Методом посева на агаризованные питательные среды определяли численность микромицетов и сапротрофных бактерий. Сукцессии грибных и бактериальных комплексов на проточной части и в старице проходят однотипно. Наблюдается смена видового состава грибов с начала сентября до второй половины октября. Достоверное снижение численности микромицетов и бактерий наблюдается при значительном понижении температуры воды. Снижение численности микромицетов на протоке происходит быстрее, чем в старице.

Ключевые слова: микроорганизмы, бактерии, микромицеты, сукцессия, малая река, проток, старица, *Nuphar lutea*, комплексы грибов

L.V. Voronin, T.F. Tschernyakovskaya

MICROORGANISMS COMPLEXES SUCCESSIONS IN DECAYING LEAVES OF NUPHAR LUTEA IN THE SMALL RIVER LATKA

The nature of microorganisms complexes successions was study in current and stagnant part of moderately polluted eutrophic small river Latka. Number of micromycetes and saprotrophic bacteriums was determined by sowing on agar nutrient mediums. Fungal and bacteriums complexes succession in current and stagnant part of river are of the same type. The composition of fungal species was changed from September to the second part of October. In the time of significant temperature fall the number of micromycetes and bacteriums was reduced. Micromycetes number reduce have taken place on current part more rapidly than on stagnant one.

Keywords: microorganisms, bacteriums, micromycetes, succession, small river, current part, stagnant part, *Nuphar lutea*, fungal complexes

Исследования на малой реке Латке бассейна Рыбинского водохранилища производили с целью выяснения роли течения в сукцессии комплексов грибов и бактерий на разлагающихся листьях плейстофита *Nuphar lutea* (L.) Smith. Река расположена в подзоне южной тайги, но окружают ее не коренные леса, а преимущественно сельскохозяйственно освоенные территории, что приводит к поступлению биогенных элементов и эвтрофированию. Высоко и содержание органических веществ, поступающих с водосборной площади: 14.6–21.4 мгС/л. Берега реки и старицы покрыты зарослями ольхи серой и различных видов ив, которые в некоторой степени играют роль фильтра. Таким образом, исследования проводились в умеренно-загрязненных эвтрофных водотоке (р. Латка) и озерке (её старица) с преобладающими нейтральными значениями рН воды [6].

Для выяснения характера сукцессий комплексов микромицетов и бактерий при деструкции листьев кубышки пробы отбирали на проточной части р. Латки и в близлежащей старице с начала сентября до конца октября. Одновременно с отбором листьев кубышки производили контроль воды на содержание конидий водных гифомицетов. Пробы воды для выявления спор водных гифомицетов сразу же после отбора фильтровали через фильтры «Millipore» с диаметром пор 8 мкм [14, 16]. Вода отсасывалась в колбу Бюхнера велосипедным насосом. После фильтрации максимально возможного объема воды фильтры подсушивали, а затем фиксировали и окрашивали 0.1%-ным раствором лактофуксина кислого [12]. Затем в лаборатории фильтры нагревали до 50–60°C в течение 40 мин. Разрезанные на фрагменты фильтры просматривали под микроскопом, подсчитывали количество спор на них и производили пересчет на литр воды.

При исследовании сукцессии комплексов грибов и бактерий на разлагающихся листьях *Nuphar lutea* части листьев на месте отбора помещали по отдельности в колбы с 250 мл стерильно-

го раствора Рингера (1:4) в трех повторностях. Через 1–2 часа после отбора проб колбы помещали на 30 мин на качалку (300 об/мин) для смыва спор грибов и клеток бактерий, а затем производили глубинный посев жидкости в подходящем разведении на две агаризованные питательные среды с антибиотиками: пивное сусло и пептонную среду Кука, рекомендуемую для выявления развивающихся на субстратах в водной среде грибов [15].

Параллельно производили посев жидкости, полученной после экспозиции растительного материала на качалке, в подходящих разведениях на РПА для определения общей численности сапротрофных бактерий. Определяли также численность аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов на среде Гетчинсона [9].

После выполнения описанных выше процедур фрагменты листьев кубышки вынимали из колб, взвешивали и измеряли их площадь. Пересчет выросших на питательных средах колоний грибов и бактерий производили на 1 см² листа.

Затем листья ставили в накопительную культуру для более полного определения видового состава грибов, кроме того, в накопительную культуру ставились дополнительно собранные листья, которые промывались обычным способом. При обработке результатов использовали стандартный статистический анализ.

Осенью при естественном отмирании листьев, наблюдаются сукцессии грибных и бактериальных комплексов разлагающихся листьев *Nuphar lutea*, которые и в реке, и в старице происходят, в принципе, однотипно.

Начальные этапы сукцессии связаны с уменьшением численности дрожжей по сравнению с их численностью на живых листьях, что мы связываем с изменением качества субстрата, а именно, с прекращением выделения листьями легкодоступных для дрожжей источников питания. В то же время резко увеличивается численность митоспоровых грибов на реке в начале сентября, т.е. на начальных этапах деструкции листьев. Следует отметить, что численность спор грибов, определенная на среде Кука и сусло-агаре, не имеет достоверных различий. Наблюдается исчезновение большинства и сохранение в незначительном количестве ряда микромицетов, характерных для комплексов грибов-экрисотрофов на живых листьях (прежде всего представителей рода *Cladosporium*), а также заселение качественно изменяющегося субстрата новыми колонизаторами (грибами рода *Phoma*, главным образом *P. herbarum* и *P. medicaginis* var. *pinodella*), которые очень быстро занимают доминирующее положение. Грибы филлопланы, продолжающие существовать на отмерших листьях, известны своей физиологической пластичностью и неоднократно отмечались нами в пионерных комплексах грибов разлагающихся макрофитов в озерах, а первые активные колонизаторы отмерших листьев *N. lutea*, представители рода *Phoma*, обладают широкой экологической амплитудой и известны как активные деструкторы, в том числе и в водных условиях [3, 7, 11, 13]. Кроме того, на среде Кука в качестве доминантов выделяются стерильные мицелии, а на сусло-агаре отмечена довольно значительная доля гриба *Dactylella submersa* (Ing.) Nilsson. В начальных этапах деструкции листьев при достаточно высокой температуре воды, помимо грибов существенное участие принимают сапротрофные и целлюлозоразрушающие бактерии.

Бактерии, развивающиеся на РПА и обозначенные нами как сапротрофные, представляют собой группу прокариот, способных разрушать легкодоступные органические вещества, и являются наиболее вероятными деструкторами белковых соединений [1, 10]. В речном протоке максимальное количество прокариот зарегистрировано в начале сентября. На фоне снижения температуры воды количество бактерий обеих групп уменьшается: в конце сентября на два порядка, в течение октября еще на один порядок. Численность спор грибов также снижается, но остается достаточно высокой до конца октября, при этом увеличивается видовое разнообразие микромицетов. Помимо указанных выше представителей рода *Phoma* значительное распространение получают другие активные деструкторы – *Phialophora lignicola*, *Trichoderma viride*, *T. hamatum*, *T. longibrachiatum*, *T. aureoviride*, *T. koningi*, *Fusarium tabacinum* и другие. Кроме того, в комплексы грибов на более поздних этапах сукцессии (особенно в октябре) входят и так называемые «сахарные» грибы [1, 2] – *Mucor hiemalis*, дрожжи *Sporobolomyces roseus*, *Cryptococcus albidus*, *C. informis-miniatius* и другие.

Грибы первой группы за счет выраженной экзогидролазной активности расщепляют различные полимерные соединения, последние же, потребляющие в основном легкодоступные углеводы,

по нашему предположению, заменяют сапротрофные бактерии при осеннем снижении температуры воды и являются сопутствующими, выполняющими так называемые вторичные этапы утилизации органических соединений.

В старице максимум численности микромицетов был достигнут не в начале сентября, а позже, в его конце. В начале сентября показатели численности сапротрофных и целлюлозоразрушающих прокариот также были на два порядка ниже, чем в протоке. Однако количество бактерий обеих групп оставалось стабильным в течение всего месяца. Уменьшение их численности в пределах одного порядка зафиксировано только в конце октября (табл. 1.2). Тенденция поддержания стабильно высокой численности аэробных целлюлозоразрушающих бактерий на разлагающемся растительном материале в озерах разного типа отмечена и другими исследователями [1].

Таблица 1

Численность микроорганизмов на листьях *Nuphar lutea* в протоке р. Латки (КОЕ/ 1 см²)

Группа микроорганизмов	Даты отбора образцов		
	8. 09	28. 09	21. 10
Микромицеты			
Сапротрофные прокариоты	3,2·10 ⁸	2,08·10 ⁶	2,09·10 ⁵
Целлюлозоразрушающие микроорганизмы	0,6·10 ⁶	1,3·10 ⁴	3,2·10 ³

Таблица 2

Численность микроорганизмов на листьях *Nuphar lutea* в старице р. Латки (КОЕ/ 1 см²)

Группа микроорганизмов	Даты отбора образцов		
	8. 09	28. 09	21. 10
Микромицеты			
Сапротрофные прокариоты	4,4·10 ⁶	3,4·10 ⁶	3,2·10 ⁵
Целлюлозоразрушающие микроорганизмы	7,8·10 ⁴	1,02·10 ⁴	4,9·10 ³

Таким образом, изменение (снижение) численности микромицетов на разлагающихся листьях *N. lutea* происходит в реке быстрее, чем в старице. На бактериальную деструкцию течение выраженного влияния не оказывает.

Соответственно изменению численности с запозданием по сравнению с рекой происходят и качественные изменения комплекса грибов на листьях кубышки в старице. Так, в начале сентября сложился бидоминантный комплекс, в который входили как новые колонизаторы (*Phoma medicaginis*, *P. medicaginis* var. *pinodella*, *P. euryena*), так и сохранившиеся еще в большей степени, чем на реке, доминанты филлопланы (*Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*). К концу сентября абсолютными доминантами стали представители рода *Phoma* (*P. medicaginis*, *P. medicaginis* var. *pinodella*, *P. exigua*, *Phoma* sp. sect. *Plenodomus*), доля других немногочисленных митоспоровых грибов была мала. В конце октября доминирующее положение занял *Fusarium tabacinum*, а видовое разнообразие комплексов так же, как и в реке, увеличилось.

С целью выявления аборигенных грибов, способных расти и образовывать споры в водной среде, применяли метод накопительной культуры. При инкубировании фрагментов разлагающихся листьев *N. lutea* как при комнатной температуре, так и при равной природной были выявлены только гифы, выделение которых в культуру не изменило представлений о сукцессии, описанной выше, т.к. это были гифы представителей родов *Phoma*, *Fusarium* и т.д. Водные гифомицеты на листьях кубышки, за исключением упоминавшегося выше *Dactylella submersa*, не обнаружены ни в реке, ни в старице. В то же время в составе пула грибных пропагул в воде содержалось довольно большое количество конидий водных гифомицетов (табл. 3).

Таблица 3

Численность конидий водных гифомицетов в 1 л воды

Водоем	23.06	28.09	21.10

Река Латка	207 (7 типов конидий)	428 (8 типов)	615 (10 типов)
Старица	–	233 (8 типов)	1455 (16 типов)

Полученные результаты свидетельствуют об эвтрофном статусе реки и старицы. Снижение доли и исчезновение водных гифомицетов из пионерных комплексов грибов, в первую очередь, на отмерших листьях с «мягкими» тканями (кубышка), и замена их «наземными» видами отмечалось нами даже при незначительном эвтрофировании озер [4]. По-видимому, наличие в воде реки конидий водных гифомицетов связано с развитием этих грибов на типичном для них субстрате, опаде ольхи и ивы, где они сохраняются при повышении трофического статуса лучше, чем на гидрофитах, а также является результатом сноса конидий течением из верховьев реки с облесенными берегами. Значительную численность конидий водных гифомицетов в старице можно объяснить близостью ее к текущей реке (не более 50 м) и поступлением речной воды при паводках.

Наблюдаемая нами сукцессия комплексов микроорганизмов на листьях кубышки согласуется с закономерными изменениями структуры сообществ организмов в природной среде [8]. На отмирающих листьях, когда число факторов, определяющих структуру системы, невелико, т.е. система «молодая» [5], в ней преобладает ограниченное количество видов, относящихся к г-стратегам. Это прежде всего представители рода *Phoma* с высокой скоростью роста и размножения, позже – *Trichoderma*. Со временем вступает в действие большее число экологических факторов, прежде всего за счет изменения самого субстрата в результате развития грибов и бактерий. Система становится более «зрелой», и в ней растет разнообразие грибов. Следует отметить, что в разложении листьев кубышки на более поздних этапах выявляются лишь относительные к-стратегии, наиболее конкурентноспособные при расщеплении сложных полимерных соединений грибы (виды родов *Phialophora* и др.). Особенности исследованного субстрата состоят в преобладании в нем легко и относительно легко расщепляемых соединений, поэтому к концу осени листья кубышки фрагментируются на мелкие частицы, становящиеся неидентифицируемыми элементами детрита, а подлинно «зрелое» сообщество, включающее истинных к-стратегов, на *N. lutea* не формируется.

Проведенные исследования свидетельствуют об однотипности сукцессий комплексов микромицетов в проточных и стоячих водах одинакового трофического статуса, расположенных в пределах единого локального ландшафта. При этом изменения структуры комплексов микромицетов происходят с большей скоростью, чем в стоячей воде.

Библиографический список

1. Белова, М. А. Процессы бактериальной деструкции макрофитов в озерах разного типа [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / М.А. Белова. – Киев, 1989. – 20 с.
2. Великанов, Л.Л. Подходы к изучению сукцессии почвенных грибов и их функциональной роли в биогеоценозах [Текст] / Л.Л. Великанов, И.И. Сидорова // Методы выделения и идентификации почвенных микромицетов-биодеструкторов. – Вильнюс, 1982. – С. 27–30.
3. Воронин, Л.В. Грибы рода *Phoma* Sacc. из воды и рыб пресных водоемов [Текст] / Л.В. Воронин // Микол. и фитопатол. – 1989. – Т. 23. – Вып. 1. – С. 19–27.
4. Воронин, Л. Комплексы грибов на отмерших растительных субстратах малых озер Карелии [Текст] / Л. Воронин // Изв. АН Эстонии. Биол. – 1993. – Т. 42. – № 2. – С. 118–129.
5. Кожевин, П.А. Микробные популяции в природе / [Текст] / П.А. Кожевин. – М.: МГУ, 1989. – 175 с.
6. Крылов, А.В. Зоопланктон и качество вод малой реки в условиях воздействия промышленных стоков [Текст] / А.В. Крылов // Зооценозы водоемов бассейна Верхней Волги в условиях антропогенного воздействия: труды ИБВВ РАН. – Вып. 69 (72). – СПб.: Гидрометеоиздат, 1993. – С. 39–47.
7. Лугаускас, А.Ю. Каталог микромицетов-биодеструкторов полимерных материалов [Текст] / А.Ю. Лугаускас, А.И. Микульскене, Д. Шляужене – М.: Наука, 1987. – 340 с.
8. Одум, Ю. Основы экологии [Текст] / Ю. Одум; пер. с англ. Н.П. Наумова. – М.: Мир, 1975. – 740 с.
9. Романенко, В.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов [Текст] / В.И. Романенко, С.И. Кузнецов. Л.: Наука, 1974. – 194 с.
10. Руководство к практическим занятиям по микробиологии [Текст]: учебное пособие / под ред. Н.С. Егорова. – М.: МГУ, 1995. – 230 с.
11. Aa, H.A. van der. Species concepts in some larger genera of the Coelomycetes [Текст] / H.A. van der Aa, M.E. Noordeloos, J. de Gruyter // Studies in Mycology. – 1990. – № 32. – P. 3–19.

12. Crane, J.L. Freshwater Hyphomycetes of the Northern Appalachian Highland including New England and three coastal plain states [Текст] J.L. Crane // Amer. J. Bot. – 1968. – Vol. 55. – № 8. – P. 996–1002.
13. Esho, R.T. Studies on the sewage fungus complex in the River Ely, South Wales, U.K. [Текст] / R.T. Esho, K. Benson-Evans // Nova Hedwigia. – 1983. – Bd. 37. – № 2-3. – P. 519–534.
14. Iqbal, S.H. Aquatic hyphomycete spora of the River Exe and its tributaries [Текст] / S.H. Iqbal, J. Webster // Trans. Brit. Mycol. Soc. – 1973. – Vol. 61. – Pt. 2. – P. 331–346.
15. Kirby, J.J.H. A particle plating method for analysis of fungal community composition and structure [Текст] / J.J.H. Kirby, J. Webster, J.H. Baker // Mycol. Res. – 1990. – Vol. 94. – Pt. 5. – P. 621–626.
16. Webster, J. Morphology, distribution and ecology of conidial fungi in freshwater habitats [Текст] / J. Webster, E. Descals // Biology of Conidial Fungi. – New York: Acad. Press, 1981. – Vol. 1. – P. 295–355.

Л.В. Воронин

ГРИБЫ ФИЛЛОПЛАНЫ NUPHAR LUTEA (L.) SMITH В МАЛЫХ РЕКАХ БАССЕЙНА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Приведены результаты анализа численности и видового состава микромицетов филлопланы *Nuphar lutea* в трех малых реках – Латке, Чеснаве и Вае. Использовался метод отпечатков фрагментов листа на агаризованное сусло с антибиотиками. Установлена зависимость численности грибов от скорости течения. Выявлено 54 вида и разновидностей мицелиальных грибов и 11 – дрожжей.

Ключевые слова: микромицеты, филлоплана, *Nuphar lutea*, метод отпечатков, малые реки, течение, грибы, дрожжи

L.V. Voronin

NUPHAR LUTEA (L.) SMITH PHYLLOPLANE FUNGI IN SMALL RIVERS OF RYBINSK RESERVOIR BASIN

Numbers and species composition analysis of *Nuphar lutea* phylloplane micromycetes was made in 3 small rivers – Latka, Tshesnava and Vaya. The method of leaves part prints on malt-agar with antibiotics was used. Dependence of fungal number on current rate was established. The total number of mycelial fungi found was 54, and of yeasts – 11.

Key words: micromycetes, phylloplane, *Nuphar lutea*, prints method, small rivers, current, fungi, yeasts

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 [5]. В ряде работ рассмотрена структура комплексов грибов филлопланы, предложены возможные принципы и пути их формирования, исследовались особенности микобиоты филлопланы в зависимости от факторов окружающей среды, изменения ее с возрастом листьев и в течение вегетационного периода, сукцессия микобиоты филлопланы. Все эти исследования проводились на наземных растениях. Микобиота филлопланы высших водных растений практически не изучалась. Гидромикологические работы носят прикладной характер и связаны с поиском патогенных грибов для использования их в борьбе с зарастанием водоемов [6]. Нами исследовалась микобиота кубышки желтой в малых озерах Вологодской обл. [1, 2].

Сбор и анализ проб на малых реках бассейна Рыбинского водохранилища производили с целью выяснения роли течения в формировании комплексов грибов филлопланы. Были выбраны три малые реки на территории Некоузского и Брейтовского районов – Латка, Чеснава и Вая. По классификации В.Л. Рохмистрова [3] река Чеснава относится к самым малым, а Латка и Вая – к очень малым. Для них характерно высокое содержание органических веществ, поступающих с водосборной площади. Так, в реке Вая нами отмечено максимальное количество растворенного органического вещества, 34.7 мгС/л, а по течению Латки оно составляет 14.6–21.4 мгС/л. Речки медленно текущие, однако в Чеснаве наблюдалось на отдельных участках быстрое течение, возникшее в ре-