

Экологические условия формирования микобиоты дикорастущих пыльценосов

Г. П. ЧЕКРЫГА, Т. Т. КУЗНЕЦОВА

Государственное научное учреждение
Сибирский научно-исследовательский и проектно-технологический институт
переработки сельскохозяйственной продукции СО Россельхозакадемии
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск, а/я 358
E-mail: GNU_IP@ngs.ru

АННОТАЦИЯ

Изучены комплексы микроскопических грибов семи видов пыльценосных растений пасеки Залесовского района Алтайского края двух годов с различными погодными условиями. Проведен сравнительный анализ грибных ценозов вегетативных, генеративных органов и пыльцевых зерен растений.

Ключевые слова: вегетативные, генеративные органы, пыльцевые зерна, растения-пыльценосы, филлосфера, микобиота, микромицеты.

Филлосфера растений заселена большим количеством разнообразных популяций микроорганизмов. Обилие и богатство видов варьируют в зависимости от вида растений, сезона и места произрастания [1]. Наличие селектирующего эффекта у высших растений в отношении эда- и эпифитных микромицетов, а также своеобразное их распределение на растениях обусловлено антибиотическими выделениями органов растений [2, 3]. Цветковые растения, к которым относятся пыльценосные, представляют обширную экологическую группу, в которой адаптировались различные виды микромицетов. Загрязнение продуктов растительного происхождения, к коим относятся продукты медоносных пчел, метаболитами грибов, в том числе токсигенными видами, начинается на растении, поэтому изучение состава микобиоты, а также распределение грибов на растении в зависимости от условий произрастания представляет определенный интерес и имеет практическое значение в свете мик-

робиологической безопасности этих видов продуктов.

Цель наших исследований – изучение формирования сообществ микромицетов на органах растений-пыльценосов в зависимости от условий их произрастания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Отбор образцов проводили с 23 по 27 июня 2007 и 2008 гг. в период активного сбора пыльцы пчелами. Растения произрастали в радиусе 0,5–3,5 км от пасеки МУПП “Таежный мед” Залесовского района Алтайского края. Для исследования отбирали стебли, листья, цветки и пыльцевые зерна семи основных видов растений-пыльценосов. Среднюю пробу составляли из 8–10 растений каждого вида. Идентификацию растений проводили по определителю [4].

Выделение грибов в чистую культуру проводили по стандартным методикам [5, 6] на средах Чапека и Сабуро. Идентифицировали по определителям [5, 7–14].

Частоту встречаемости видов грибов определяли в процентах по доле образцов, в которых обнаружен данный вид, от общего числа проанализированных образцов. Частоту доминирования оценивали в процентах по доле образцов, в которых данный вид превышал 30 % общей численности микромицетов, от общей численности проанализированных образцов. Анализ популяционной изменчивости грибных ценозов проводили по Л. А. Животовскому. Критерий попарного сходства (r) микобионтов вычисляли как частоту общих видов в сравниваемых образцах: $r = \sqrt{p_1xq_1} + \sqrt{p_2xq_2} + \dots + \sqrt{p_nxq_n}$, оценка значимости показателя сходства сообществ (r) проводилась по критерию идентичности (Id) по формуле $Id = \frac{8N_1 \times N_2}{N_1 + N_2} \left(1 - r \frac{p^0 + q^0}{4} \right)$ [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В растительном ценозе на припасечном участке в 2007 г. преобладали пыльценозные растения – клевер луговой (*Trifolium repens* L.), лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* L., Maxim), эспарцет посевной (*Onobrychis sativa* Lam.), синяк обыкновенный (*Echium vulgare* L.), володушка золотистая (*Bupleurum aureum* Frich. ex Hoffm), козелец пурпурный (*Scorzonera purpurea* L.), подорожник многосемянный (*Plantago polysperma* Kar. et Kir.).

В микобиоте растений-пыльценосов выделено 1003 изолята микромицетов. Таксономическая структура микобиоты представлена 34 видами из 13 родов. Наибольшим видовым разнообразием характеризовались грибы рода *Penicillium* (13 видов).

В составе микобиоты вегетативных органов растений идентифицировано 30 видов, из которых 33,3 % занимали грибы рода *Penicillium* (табл. 1). Типично эпифитные виды представлены сем. Dematiaceae – родами *Alternaria* и *Cladosporium*, дрожжи – *Cryptococcus albidus*. Наибольшее видовое разнообразие отмечено в микобиоте вегетативных органов *Onobrychis sativa* (16) и *Echium vulgare* (13), наименьшее – у *Bupleurum aureum* (3) и *Filipendula ulmaria* (5). В микобиоте *Onobrychis sativa* 43,7 % составляли виды р. *Penicillium*, среди которых доминировал *P. terrestre* (обилие составляло 42,3 %). В микобиоте

Т а б л и ц а 1
Качественная и количественная характеристика микобиоты вегетативных, генеративных органов и пыльцевых зерен растений-пыльценосов, шт.

Вид	Вегетативные органы						Генеративные органы						Пыльцевые зерна	
	Грибы родов <i>Penicillium</i>			Грибы родов <i>Penicillium</i>			Грибы родов <i>Penicillium</i>			Грибы родов <i>Penicillium</i>			Грибы родов <i>Penicillium</i>	
	Изоляты	Виды	Изоляты	Виды	Изоляты	Виды	Изоляты	Виды	Изоляты	Виды	Изоляты	Виды	Изоляты	Виды
<i>T. repens</i>	13	7	9	3	3	8	3	0	0	55	4	1	1	1
<i>F. ulmaria</i>	14	5	2	2	5	7	2	2	1	10	3	4	1	1
<i>O. sativa</i>	156	16	117	7	6	111	36	6	2	39	6	5	1	1
<i>E. vulgare</i>	83	13	5	4	7	63	6	1	1	52	4	41	2	2
<i>B. aureum</i>	25	3	0	0	8	74	8	8	1	35	5	1	2	2
<i>S. purpurea</i>	26	10	5	3	8	27	2	3	3	94	8	6	2	2
<i>P. polysperma</i>	38	8	0	0	10	63	2	2	3	10	6	0	0	0
Общее число изолятов	355	30	138	10	21	353	56	295	16	52	52	52	52	52
Общее число видов														

Echium vulgare доминировал *Cladosporium cladosporioides* с обилием 48,2 %, а грибов рода *Penicillium* было меньше – 23,1 %.

В микобиоте вегетативных органов *Vupleurum aureum*, произрастающих совместно с *Filipendula ulmaria*, преобладали виды сем. Dematiaceae. Доминировал *Alternaria circinans*, обилие которого варьировало от 64,3 до 68 % соответственно. Сходство микобиоты вегетативных органов этих растений было достоверно ($Id < \chi^2$; $P = 0,01$) высоким ($r = 0,7$), хотя среднее число родов *Filipendula ulmaria* – 3,9, тогда как у *Vupleurum aureum* – 2,4, а доля редких фенотипов одинакова и составляла 0,2 %. Несколько ниже показатель сходства сообществ микромицетов вегетативных органов *Vupleurum aureum* и *Trifolium repens* ($r = 0,5$). Анализ внутривидовой изменчивости показал, что в микобиоте *Trifolium repens* среднее число родов в 2,5 раза больше, хотя доля редких фенотипов почти на одном уровне – 0,1 и 0,2 %. Более низкий показатель сходства обусловлен произрастанием и расположением вегетативных органов на разном удалении от поверхности почвы. Так, *Vupleurum aureum* произрастала в густом травостое, и высота ее достигала 1,0–1,5 м, а *Trifolium repens* рос на открытом пространстве, и его вегетативные органы располагались у самой поверхности почвы, поэтому в его микобиоте преобладали типичные представители почвенной микрофлоры – виды р. *Penicillium* (42,9 %).

В 12–15 м от места произрастания *Trifolium repens* рос *Plantago polysperma*. Вегетативные органы обоих видов растений находились на одном уровне от почвы и в небольшой удаленности друг от друга, но условия их произрастания были разными. *Plantago polysperma* в отличие от *Trifolium repens* рос в сырой низине, что и обусловило преобладание в его микобиоте представителей порядка Mucorales. Отсюда достоверный ($Id < \chi^2$; $P = 0,01$), но низкий показатель сходства ($r = 0,3$) микобиоты вегетативных органов этих растений.

В 2–3 м от *Plantago polysperma* рос *Scorzonera purpurea*. Под порывом ветра стебли этого растения полегли и практически находились на том же уровне, что и *Plantago polysperma*, поэтому показатель сходства микро-

биоты этих растений был достоверно высоким ($r = 0,5$).

Echium vulgare рос отдельно на косогоре, в 300 м от места произрастания других растений, в разреженном травостое. Фитоценоз данного участка состоял преимущественно из одного вида растения. Достоверное, но не высокое ($r = 0,4$) сходство сообщества микромицетов его вегетативных органов отмечалось только с *Filipendula ulmaria*, росшим на склоне косогора в 100–150 м от *Echium vulgare*.

Общим в микобиоте вегетативных органов большинства исследуемых растений независимо от места произрастания и их расположения было доминирование эпифитных грибов сем. Dematiaceae – родов *Alternaria* и *Cladosporium*. Исключение составлял микоценоз *Onobrychis sativa*, где доминировал *P. terrestre* (обилие 42,3 %). Растения этого вида произрастали в разреженном травостое, и их веточки находились на уровне почвы. У 57,1 % исследуемых микоценозов вегетативных органов дикорастущих пыльценосов наблюдалось достоверное сходство ($Id < \chi^2$; $P = 0,01$).

Известно, что на формирование эпифитной микрофлоры цветка существенное влияние оказывают летучие органические соединения, служащие источником питания для этой группы микроорганизмов [16–18]. Изучая воздействие летучих соединений различных частей цветка на микобиоту, Н. Н. Карташова установила, что чаще всего эта роль принадлежит нектарникам – секреторным органам цветка. По данным Ю. М. Возняковской, еще не раскрывшиеся бутоны цветков стерильны, и лишь после их раскрытия происходит интенсивное заселение всех органов цветка различными видами микроорганизмов [19]. Именно антибиотические свойства нектарников и других частей околоцветника являются той защитной реакцией, которая выработалась в процессе эволюции и препятствует проникновению инфекции внутрь цветка.

Видовое разнообразие в микобиоте цветков было меньше по сравнению с вегетативными органами – 21 вид против 30 соответственно. Снижение количества видов произошло в основном за счет грибов р. *Penicillium* (23,8 %). Наибольшим видовым разнообразием характеризовалась микобиота цветков *Plantago polysperma* (10). При этом домини-

ровали *Alternaria circinans* и *Cladosporium herbarum*. В отличие от *Trifolium repens* в микробном ценозе *Plantago polysperma*, произрастающего в низине при повышенной влажности, как и в микобиоте вегетативных органов, доминировали грибы порядка Mucorales – *Mucor variabilis* и *Rhizopus nigricans*.

При сравнительном анализе микоценозов вегетативных и генеративных органов пыльценосных растений обнаружено, что в микобиоте генеративных органов достоверный показатель сходства в 1,7 раза ниже показателя сходства вегетативных органов, причем он не имеет высокого коэффициента, за исключением микобиоты цветков *Scorzonera purpurea* и *Trifolium repens* ($r = 0,5$). Анализ внутривидового разнообразия показал, что при колебаниях среднего числа родов от 2,8 до 6,8 наблюдались колебания доли редких фенотипов от 0,03 до 0,4 %. Возможно, это связано с селектирующими свойствами этих органов растений.

В литературных источниках очень мало сведений о микобиоте пыльцы, за исключением предположения Л. Л. Великанова, что значительная роль в распространении микроскопических грибов принадлежит именно пыльце растений, контаминированной их спорами [20]. В то же время пыльца является составляющей всех продуктов пчел – пыльцевой обножки, перги, меда, прополиса и др.

Анализ сообщества микромицетов пыльцевых зерен показал, что видовое разнообразие сократилось почти в 2 раза по сравнению с микобиотой вегетативных органов и в

1,3 раза по сравнению с генеративными. В микобиоте пыльцевых зерен выявлено всего от 3 до 8 видов в зависимости от вида растения, что, возможно, связано с высоким антибиотическим действием нектарников во время “пыления” [16]. Грибы рода *Penicillium* в микобиоте пыльцевых зерен составили всего 18,8 %. Высокой была частота встречаемости *P. terrestre* (71,4 %) и *Cladosporium straminicola* (71,4 %). У 38 % исследованных сообществ наблюдается достоверное ($Id < \chi^2$; $P = 0,01$) сходство. Достоверно высокий показатель сходства отмечен между пыльцевыми зёрнами *Bupleurum aureum*, *Filipendula ulmaria* ($r = 0,5$) и *Onobrychis sativa* ($r = 0,6$).

В 2008 г. исследовали микобиоту растений – пыльценосов синюхи голубой (*Polemonium coeruleum* L.), борщевика сибирского (*Heraclium sibiricum* L.), клевера гибридного (*Trifolium hybridum* L.), синяка обыкновенного (*Echium vulgare* L.), володушки золотистой (*Bupleurum aureum* Frich. ex Hoffm). Только два вида растений *Echium vulgare* и *Bupleurum aureum* были собраны в оба года. Растения собраны с тех же мест, где росли в 2007 г., но так как эти годы характеризовались различными погодными условиями (июнь 2007 г. был умеренно влажный, а 2008 г. – засушливый), растения *Bupleurum aureum* отличались по высоте (2007 г. – 1,0–1,5 м; 2008 г. – 0,7–1,0 м), а *Echium vulgare* и по высоте (0,5–0,7 м), и по густоте травостоя (сильно разреженный).

Сравнительный анализ данных микобиоты этих растений по годам показал измене-

Т а б л и ц а 2

Сравнительная характеристика микобиоты *Echium vulgare* L. и *Bupleurum aureum* Frich. ex Hoffm по годам

Вид	Органы	2007 г.		2008 г.	
		Среднее число родов, $x \pm S$	Доля редких фенотипов, %	Среднее число родов, $x \pm S$	Доля редких фенотипов, %
<i>Echium vulgare</i>	Вегетативные	8,8 ± 0,7	0,2 ± 0,04	6,3 ± 0,5	0,3 ± 0,1
	Генеративные	3,6 ± 0,4	0,4 ± 0,1	3,2 ± 0,3	0,4 ± 0,1
	Пыльцевые зерна	2,9 ± 0,2	0,3 ± 0,1	3,1 ± 0,3	0,2 ± 0,1
<i>Bupleurum aureum</i>	Вегетативные	4,7 ± 0,4	0,2 ± 0,1	4,4 ± 0,3	0,6 ± 0,02
	Генеративные	4,9 ± 0,5	0,4 ± 0,05	7,1 ± 0,3	0,1 ± 0,03
	Пыльцевые зерна	3,6 ± 0,3	0,3 ± 0,1	4,0 ± 0,4	0,2 ± 0,1

ния популяционного разнообразия. В микобиоте *Echium vulgare* достоверно высокое сходство ($Id < \chi^2$; $P = 0,01$) выявлено у 53,8 % сообществ, в микобиоте *Vupleurum aureum* – только у 6,3 %. Показатели сходства были высокими между микобиотой генеративных органов *Echium vulgare* обоих годов ($r = 0,83$), о чем свидетельствуют практически одинаковое среднее число родов, колеблющееся от 3,6 до 3,2 (табл. 2), и схожая доля редких фенотипов (0,4 %), в микобиоте пыльцевых зерен ($r = 0,88$), где среднее число родов изменялось от 2,9 до 3,1, а доля редких фенотипов – от 0,3 до 0, %. В микобиоте *Echium vulgare* в 2008 г. число видов сократилось с 16 до 11. Не выявлены *Cladospotium linicola*, *C. herbarum*, *C. straminicola*, дрожжи *Cryptococcus albidum* и виды порядка Mucorales: *Mucor racemosus* и *M. circinelloides*. Общим для микобиоты обоих годов было доминирование *Cladospotium cladosporioides* (66,7 и 100,0 %) и *Penicillium restrictum* (100,0 и 50,0 %).

В микобиоте генеративных органов и пыльцевых зерен *Vupleurum aureum* наблюдались достоверные различия ($Id > \chi^2$; $P = 0,01$), обусловленные колебаниями показателей популяционного разнообразия: среднее число родов изменялось по годам от 4,9 до 7,1, доля редких фенотипов – от 0,4 до 0,1 % в микобиоте пыльцевых зерен от 3,4 до 4,0 и 0,3 до 0,2 % соответственно. Число выделенных видов по годам практически не изменялось: 12 против 13, однако видовое разнообразие их имело существенные отличия. Если в микобиоте *Vupleurum aureum* в 2007 г. доминировали *Alternaria circinans* (100,0 %), *A. alternata* (50,0 %), то в 2008 г. – *A. tenuissima* (50,0 %), *Bipolaris sorokiniana* (33,3 %) и *Cladospotium cladosporioides* (50,0 %).

Общим в микобиоте исследуемых растений наблюдалось доминирование грибов *Cladospotium cladosporioides*: (83,3 %) при 100 % встречаемости у *Echium vulgare* L. и (33,3 %) при 50,0 % встречаемости у *Vupleurum aureum*.

ВЫВОДЫ

1. Условия произрастания оказывают существенное влияние на формирование микобиоты пыльценосных растений. Микобиота

формируется за счет эпи- и эдафитных групп микромицетов в зависимости от вертикального распределения органов растений, а также селективирующего действия антибиотических выделений.

2. Из семи видов исследованных пыльценосных растений наиболее контаминирован микромицетами *Onobrychis sativa* Lam., на который приходилось 30,5 % от общего числа выделенных изолятов.

Более высокая заспоренность пыльцевых зерен отмечена у *Scorzonera purpurea* L. – 31,9 % от числа выделенных изолятов. Больше число изолятов рода *Penicillium* обнаружено в микобиоте пыльцы *Echium vulgare* L. – 78,8 %.

ЛИТЕРАТУРА

- Inacio J., Pereira P., de Carvalho M., Fonseca A., Amaral-Cjllaco M. T., Spenser-Martins I. Estimation and Diversity of Phyloplane Mycobiota on Selected Plants in a Mediterranean-Type Ecosystem in Portugal // Microbial Ecology. New York: Springer-Verlag, 2002. S. 344–353.
- Беккер З. Э. Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1963. 230 с.
- Кочунова Т. А. Фитонциды как фактор регулирования взаимоотношений растений с микроорганизмами почвы // Фитонциды в народном хозяйстве. Киев: Наук. думка, 1964. С. 59–62.
- Красноборов И. М., Ломоносова М. Н., Шауло Д. Н. и др. Определитель растений Новосибирской области. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 2000. 492 с.
- Литвинов М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1967. 303 с.
- Методы экспериментальной микологии. Киев: Наук. думка, 1982. 549 с.
- Пидопличко Н. М. Пенициллии: ключ к определению видов. Киев: Наук. думка, 1972. 148 с.
- Пидопличко Н. М. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель. Т. 1, 2. Киев: Наук. думка, 1977.
- Gerlach W., Nirenberg H. The Genus Fusarium – a Pictorial Atlas. Berlin, 1982. 406 p.
- Билай В. И., Коваль Э. З. Аспергиллы: определитель. Киев: Наук. думка, 1988. 204 с.
- Саттон Д. Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 468 с.
- Andreoni S., Farina C., Lombardi G. Medical Mycology Atlas – Stampa: GRAFIC rt srl – Paderno Dugnano Copyright. 2004. 239 p.
- Raper K. B., Thom G. A. A manual of the Penicillia. Baltimore, 1949. 875 p.
- Thom G. A., Raper K. B. A manual of the Aspergillus. Baltimore, 1945. 373 p.

15. Животовский Л. А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
16. Карташова Н. Н. Антибиотические свойства отдельных частей цветков некоторых растений // Фитонциды и их роль в природе: избр. докл. Второго совещ. по проблеме фитонцидов. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1957. С. 62–67.
17. Драбкин Б. С., Думова А. М. Об изучении фитонцидного действия живых растений // Там же. С. 22–31.
18. Санадзе Г. А. Выделения растениями летучих органических веществ: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тбилиси, 1959. 20 с.
19. Возняковская Ю. М. Микрофлора растений и урожай. Л.: Колос, 1969. 240 с.
20. Великанов Л. Л., Успенская Г. Д. Некоторые вопросы экологии грибов (пути формирования основных экологических групп грибов, их место и роль в биогеоценозах) // Итоги науки и техники. Ботаника. Т. 4. М.: ВИНТИ, 1980. С. 49–105.

Ecological Conditions for the Formation of Mycobiota of Wild-Growing Pollen Plants

G. P. CHEKRYGA, T. T. KUZNETSOVA

*State Scientific Institution Siberian Research and Designing Technological Institute of Processing Agricultural Production, SB of Russian Agricultural Academy
630501, Novosibirsk Region, Krasnoobsk, p/b 358
E-mail: GNU_IP@ngs.ru*

Complexes of microscopic fungi of seven polliniferous species at an apiary in the Zalesovo District of the Altay Territory were studied during two years with different weather conditions. A comparative analysis of fungal cenoses of vegetative, generative organs and pollen grains of plants was carried out.

Key words: vegetative, generative organs, pollen grains, polliniferous plants, phyllosphere, mycobiota, micromycetes.