

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 582.28+582.273

**Микобиота красной водоросли *Palmaria palmata*
в Кандалакшском заливе Белого моря****М.И. Коваленко¹, М.Л. Георгиева^{1, 2} , В.В. Козловский³, И.А. Максимова⁴ ,
А.В. Качалкин^{4, 5} , Е.Н. Бубнова^{6, *} **¹Кафедра микологии и альгологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;²Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Россия, 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1;³Центр морских исследований, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, вл. 1, стр. 77, Научный парк МГУ, офис 402;⁴Кафедра биологии почв, факультет почвоведения, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;⁵Пушинский научный центр биологических исследований РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина РАН, Россия, 142290, г. Пушкино, пр. Науки, д. 5;⁶Беломорская биостанция имени Н.А. Перцова, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12*e-mail: katya.bubnova@wsbs-msu.ru

Проведено исследование разнообразия микромицетов, ассоциированных с живыми талломами съедобной красной водоросли *Palmaria palmata* (дульс) в Белом море. Образцы отбирали в Кандалакшском заливе, на верхней (10 талломов на литорали) и нижней (10 талломов в сублиторали) границах распространения вида. Работу проводили культуральными методами, грибы выделяли с поверхности талломов. С одного образца водоросли выделялось от 0 до 55 колоний; максимальное число морфотипов – 24. Общее разнообразие составило 52 морфотипа, из которых 48 мицелиальных и 4 дрожжевых. Все идентифицированные дрожжи относятся к отделу Basidiomycota; среди мицелиальных грибов 2 вида принадлежат к отделу Mucoromycota, остальные – к отделу Ascomycota, абсолютное большинство из которых – анаморфы. Наиболее разнообразными были представители родов *Acremonium* (10 морфотипов), *Penicillium* (9) и *Cladosporium* (6); самыми многочисленными – *Acremonium* (158 колоний) и *Cladosporium* (103). *Acremonium fuci* – вид, наиболее широко представленный на исследованных талломах (122 колонии на 15 талломах). Важнейшим фактором для формирования поверхностной микобиоты *P. palmata* является местообитание: литоральные и сублиторальные популяции водоросли существенно различаются по численности и структуре сообществ грибов. Талломы литоральной популяции значительно богаче грибами, здесь преобладают темноокрашенные виды, *Acremonium fuci* и *Sarocladium strictum*. В микобиоте сублиторальных образцов – светлоокрашенные виды, отсюда же выделено большинство дрожжей.

Ключевые слова: морские грибы, водоросли-макрофиты, Rhodophyta, *Palmaria*, дульс, Белое море

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-1-4

Водоросли-макрофиты – важнейшие продуценты в прибрежных экосистемах мирового океана [1, 2]. Многие из них используются человеком в пищу, в промышленности и в сельском хозяйстве [2]. Грибы, ассоциированные с живыми талломами водорослей – это неоднородная экологическая группа, куда входят сапротрофы, мутуалисты и патогены [1]. Согласно имеющимся данным, на водорослях можно обнаружить около 80 видов облигатных [1] и несколько меньшее чис-

ло видов факультативных морских грибов [3–5]. Молекулярные исследования также показывают высокое разнообразие грибов, связанных с талломами водорослей [6–8]. Есть сведения, что талломы водорослей-макрофитов могут содержать микотоксины в высоких концентрациях [9], что также является признаком присутствия грибов. Грибы, связанные с водорослями (по англоязычной терминологии – algalicolous fungi), могут быть как эндифитными, так и эпифитными. Эндифитами

считают грибы, живущие в коровом и внутренних слоях таллома [1], а эпифитами – грибы, обитающие на поверхности и в слизистом чехле хозяина [4]. Живые талломы водорослей выделяют большое количество полисахаридной слизи и активных веществ [1, 2]. Эта слизь создает на поверхности талломов специфическую среду, в которой поселяются микроорганизмы, образуя уникальные многокомпонентные сообщества. В большей степени тема биопленок на поверхности макрофитов исследована микробиологами [10, 11]. Но имеющиеся данные по грибам свидетельствуют о том, что поверхность водорослей – привычное для них местообитание [3, 4, 11–13], и они также могут участвовать в образовании поверхностных биопленок на макрофитах.

Palmaria palmata (L.) F. Weber & D. Mohr – красная водоросль (Rhodophyta, Florideophyceae, Palmariales, Palmariaceae), широко распространенная в холодных водах северной и северо-восточной Атлантики [14]. Она обитает от нижней литорали до глубины около 20 м, в основном как эпифит на талломах крупных бурых водорослей. Талломы пальмарии, с продолжительностью жизни 2–4 г., до 50 см высотой, пластинчатые, состоят из частей разного возраста: в основании более старые, полуразрушенные лопасти предыдущих лет, на них – более молодые, ежегодно возникающие ответвления, называемые также пролификациями [15]. В Северной Америке и в Европе этот вид является самым массовым пищевым макрофитом (бытовое англоязычное название – *dulse*), в некоторых районах ее культивируют, а также используют как удобрение в сельском хозяйстве [14, 15]; известны попытки применения ее в ремедиации загрязненных вод [16]. В связи с важностью пальмарии не только в природных сообществах, но и в народном хозяйстве, ее биология довольно подробно исследована [15, 17, 18]. Проводились исследования микробиома этой водоросли [19]. В то же время о микробиоте пальмарии сведения крайне скудны. Известно о двух находках паразитических грибов на ней у французского побережья Атлантического океана [20]: это *Chadefaudia marina* Feldm.-Maz. и *Didymella magnei* Feldmann. Еще одна работа была посвящена эндофитным грибам различных водорослей у атлантического побережья Канады. Здесь была обнаружена очень высокая заселенность талломов *Palmaria palmata* грибами (87,4% фрагментов, что в 4 раза выше среднего по всем исследованным видам). Были выделены представители 9 морфотипов, среди которых 3 вида из рода *Penicillium*, представители родов *Hypoxylon*, *Helicomycetes* и *Botrytis*, а также 3 морфотипа стерильных мицелиев [21, 22]. В 1920-х гг. на образцах пальмарии с литорали острова Кильдин в Баренцевом море были обнаружены красные дрожжи [23]. А при исследовании численности дрожжей на поверхности

различных водорослей у атлантического побережья США было показано, что на талломах пальмарии, как и на других красных водорослях, она изменяется в разные сезоны и может колебаться от 4 до 8600 клеток/г [12]. Этим сведения о грибах, ассоциированных с талломами *Palmaria palmata*, к настоящему времени исчерпываются.

С учетом природной и хозяйственной значимости пальмарии, а также потенциальной важности и слабой изученности ее микробиоты, целью настоящей работы было исследование разнообразия грибов, ассоциированных с *Palmaria palmata* в Белом море. В задачи исследования входило: выявление наличия грибов и определение их таксономического состава на разных частях таллома водоросли; сравнительная характеристика комплексов грибов на старых и молодых участках таллома; сравнительная характеристика комплексов грибов на талломах литоральных и сублиторальных популяций водоросли.

Материалы и методы

Материалами нашего исследования послужили талломы *P. palmata* (рис. 1), собранные в августе 2018 г. в окрестностях Беломорской биостанции имени Н.А. Перцова в Кандалакшском заливе Белого моря (66°34' с.ш., 33°08' в.д.). Мы выбрали две площадки сбора талломов: у верхней границы распространения водоросли на средней литорали и у нижней границы в этом районе – в сублиторали, на глубине около 5,5 метров. Площадки располагались на одной линии, перпендикулярной урезу воды, на расстоянии около 200 м друг от друга. Сбор талломов литоральной популяции производили во время отлива. Здесь пальмария представлена эпифитами на талломах бурых фукоидов *Fucus distichus* L. и *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis. Сбор талломов сублиторальной популяции осуществляли при водолазном погружении. В этом экотопе пальмария являлась эпифитом на талломах ламинариевых водорослей *Saccharina latissima* (L.) C.E. Lane, C. Meyers, Druehl & G.W. Saunders и *Laminaria digitata* (Hudson) J.V. Lamouroux. Всего было отобрано по 10 талломов на каждой площадке, на расстоянии 1–3 м друг от друга. Каждый отобранный таллом помещали в индивидуальный стерильный полиэтиленовый пакет и до обработки хранили в холодильнике при 6°C.

Не позднее, чем через 5 сут после сбора, производили первичный посев. Для него использовали агаризованные среды на основе природной беломорской воды соленостью 26‰: овсяный агар, сусло-агар (общее содержание сахаров 0,15%) и оригинальный пальмарный агар (свежие нарезанные талломы *P. palmata*, взятые из расчета 56 грамм на 1 л среды, промывали проточной водой, кипятили в природной морской воде 10 мин, после чего остужали, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, и доводили до конечного объе-

ма дистиллированной водой; добавляли 0,4 г дрожжевого экстракта и 15 г агара на 1 л среды). Для подавления роста бактерий в среды добавляли комплексный антибиотик оксациллин + ампициллин, (133,4 мг + 66,6 мг) / 0,5 л среды, или гентамицин, 40 мг / 0,5 л среды. Перед посевом каждый образец промывали под проточной водой от крупных загрязнений, после чего еще раз промывали стерильной морской водой. Затем стерильным скальпелем отделяли старые разрушающиеся части таллома от молодых пролификаций (рис. 1) и каждую из этих групп разделяли на две равные части. Из каждой группы этих фрагментов половина шла на посев поверхностной микобиоты, другую половину подвергали поверхностной стерилизации по модифицированной нами методике, использованной ранее для работы с бурыми водорослями [4]. Модификация состояла в уменьшении времени инкубации в стерилизующих растворах в связи с тем, что талломы пальмарии значительно более тонкие и нежные, чем талломы исследованных ранее фукоидов. Все фрагменты, приготовленные для посева, стерильно нарезали на кусочки площадью 1 см² и раскладывали на поверхность среды в чашки Петри, по 3–4 фрагмента на чашку. Для каждого варианта было использовано по 4 чашки для посева (1 – сусло-агар, 1 – овсяной агар, 2 – пальмария-агар). Кроме посева талломов были также сделаны контрольные посевы воды и воздуха на участке отбора образцов. Все посевы инкубировали в течение 1 мес. при температуре 6°C. После инкубации выделяли чистые культуры для дальнейшей идентификации. Мицелиальные грибы идентифицировали только по морфолого-культуральным критериям [7, 20, 24–26]. Для идентификации

дрожжевых грибов использовали данные секвенирования ITS-региона рДНК. Методика выделения ДНК и проведения полимеразной цепной реакции опубликованы ранее [27]. Для секвенирования был использован праймер ITS5, секвенирование осуществлялось в ЗАО «Евроген» (Москва, Россия). Идентификацию дрожжей на основании полученных результатов секвенирования проводили, используя данные генбанка NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) и базы данных MycoID (www.mycobank.org). Синонимию и таксономическое положение всех идентифицированных таксонов сверяли по базе MYCOBANK (<https://www.mycobank.org>).

Использовали понятие обилия видов как отношение числа колоний данной группы к общему числу колоний в варианте, выраженное в процентах. Для определения различия видового состава различных вариантов рассчитывали индексы Сьеренсена-Чекановского и Брея-Кертиса. Видовое разнообразие различных вариантов оценивали по индексу Шеннона. Для исследования структуры и характера взаимосвязей, существующих между исследуемыми вариантами, применяли многомерное шкалирование (Multidimensional Scaling). Мы приняли два набора вариантов: 1) по признаку локализации: образцы литорали / образцы сублиторали; 2) по признаку возраста: образцы старых частей таллома / образцы молодых частей таллома. Для проверки правильности группировки вариантов была проведена процедура проверки неслучайности группировки объектов (ANOSIM – Analysis of Similarities: группировка считается неслучайной при значимости ниже 5%). Для всех расчетов использовали пакеты MS Excel 2007 (Microsoft™) и PRIMER v6 (Primer™, 2001).

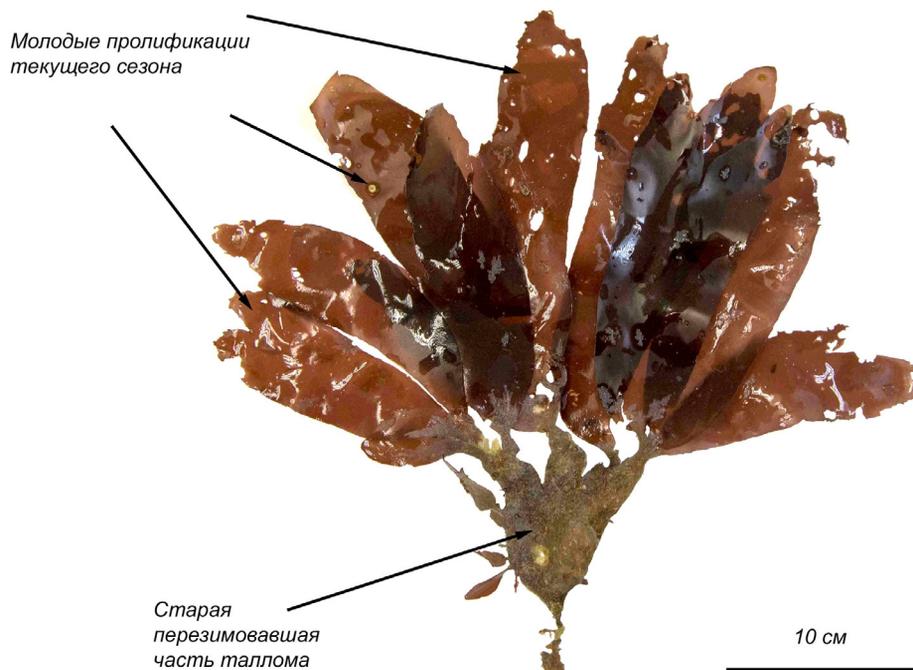


Рис. 1. Внешний вид таллома *Palmaria palmata*.

Результаты и обсуждение

Сразу отметим, что попытки выделить эндофитные грибы из талломов пальмарии не увенчались успехом. Причиной этого может служить как их отсутствие или слишком большая редкость в наших образцах, так и недостатки методики стерилизации. В любом случае, это требует отдельного исследования, а дальнейшее изложение связано только с поверхностной микобиотой данной водоросли. Кроме того, не удалось выявить особенностей микокомплексов, выделявшихся на разных средах, поэтому в дальнейшем мы не обсуждаем эти различия, а рассматриваем общую микобиоту по каждому варианту.

Общая характеристика микобиоты. С талломов исследуемой водоросли мы выделили и идентифицировали 320 спороносящих изолятов мицелиальных грибов и 9 изолятов дрожжей; из контрольных посевов – 65 спороносящих изолятов мицелиальных грибов и 2 изолята дрожжей (таблица). Идентифицированные дрожжи принадлежат 4 видам из 4 родов отдела Basidiomycota. 2 вида из 2 родов мицелиальных грибов относятся к отделу Mucoromycota, а все остальные – к отделу Ascomycota, из которых только один вид (*Chaetomium globosum*) образовывал плодовые тела, а все остальные – это анаморфные стадии представителей различных классов. Общее разнообразие мицелиальных грибов – 41 вид из 25 родов

Таблица

Разнообразие и численность исследованной микобиоты

Названия таксонов	T*	K	СУММ
MUCOROMYCOTA			
Mucoromycetes			
Mucorales			
Mucoraceae			
<i>Mucor racemosus</i> f. <i>sphaerosporus</i> (Hagem) Schipper	2	0	2
Umbelopsidomycetes			
Umbelopsidales			
Umbelopsidaceae			
<i>Umbelopsis ramanniana</i> (Möller) W. Gams	0	1	1
ASCOMYCOTA			
Pezizomycotina			
Dothideomycetes			
Cladosporiales			
Cladosporiaceae			
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	18	2	20
<i>Cladosporium fusiforme</i> Zalar, de Hoog & Gunde-Cimerman	1	0	1
<i>Cladosporium halotolerans</i> Zalar, de Hoog & Gunde-Cim.	3	0	3
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	22	35	57
<i>Cladosporium salinae</i> Zalar, de Hoog & Gunde-Cim.	4	3	7
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.	9	6	15
Pleosporales			
Pleosporaceae			
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire	1	0	1
<i>Paradendryphiella arenariae</i> (Nicot) Woudenb. & Crous	10	0	10
<i>Paradendryphiella salina</i> (G.K. Sutherland) Woudenb. & Crous	14	0	14
Eurotiomycetes			
Eurotiales			
Aspergillaceae			
<i>Penicillium atramentosum</i> Thom	5	0	5
<i>Penicillium aurantiocandidum</i> Dierckx	1	0	1
<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx	1	0	1
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	3	0	3
<i>Penicillium cyclopium</i> Westling,	3	0	3
<i>Penicillium expansum</i> Link	3	0	3
<i>Penicillium fellutanum</i> Biourge	1	0	1
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling	3	0	3
<i>Penicillium thomii</i> Maire	6	0	6
Chaetothyriales			
Herpotrichiellaceae			
<i>Phialophora</i> cf. <i>cyclaminis</i> J.F.H. Beyma	1	0	1
<i>Phialophora</i> sp. 1	1	0	1
Leotiomycetes			
Helotiales			

Окончание таблицы

Названия таксонов	Т*	К	СУММ
Ploetterulaceae			
<i>Cadophora fastigiata</i> Lagerb. & Melin	3	0	3
<i>Cadophora malorum</i> (Kidd & Beaumont) W. Gams	1	0	1
Sclerotiniaceae			
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	2	2	4
Thelebolales			
Pseudeurotiaceae			
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D.L. Lindner	0	1	1
Sordariomycetes			
Hydrocales			
Chaetomiaceae			
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	2	0	2
<i>Trichocladium</i> sp.	1	0	1
Cordycipitaceae			
<i>Akanthomyces lecanii</i> (Zimm.) Spatafora, Kepler & B. Shrestha	2	0	2
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill.	1	0	1
<i>Cordyceps farinosa</i> (Holmsk.) Kepler, B. Shrestha & Spatafora	1	0	1
Hydrocales			
<i>Acrostalagmus luteoalbus</i> (Link) Zare, W. Gams & Schroers	2	1	3
Glomerellales			
Plectosphaerellaceae			
<i>Verticillium chlamydosporium</i> Goddard	3	0	3
Nectriaceae			
<i>Fusarium oxysporum</i> Schldtl.	1	0	1
Ophiocordycipitaceae			
<i>Tolypocladium cylindrosporum</i> W. Gams	3	1	4
<i>Tolypocladium inflatum</i> W. Gams	2	0	2
Sarocladiaceae			
<i>Sarocladium strictum</i> (W. Gams) Summerbell	23	3	26
Hydrocales i.s.			
<i>Acremonium byssoides</i> W. Gams & G. Lim	1	0	1
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	10	0	10
<i>Acremonium minutisporum</i> (Sukapure & Thirum.) W. Gams	1	0	1
<i>Acremonium fuci</i> Summerb., Zuccaro & W. Gams	122	8	130
<i>Acremonium tubakii</i> W. Gams	4	0	4
<i>Acremonium</i> spp. 1-5	12	0	12
Saccharomycotina			
Saccharomycetes			
Saccharomycetales			
Dipodascaceae			
<i>Geotrichum candidum</i> Link	2	0	2
BASIDIOMYCOTA			
Agaricomycotina			
Tremellomycetes			
Tremellales			
Bullaribasidiaceae			
<i>Vishniacozyma foliicola</i> Q.M. Wang & F.Y. Bai ex Yurkov	1	0	1
Rhynchogastremataceae			
<i>Papiliotrema fonscae</i> (V. de Garcia, Zalar, Brizzio, Gunde-Cim. & van Broock) Yurkov	2	0	2
Pucciniomycotina			
Cystobasidiomycetes			
Sakaguchiales			
Sakaguchiaceae			
<i>Sakaguchia dacryoidea</i> (Fell, I.L. Hunter & Tallman) Y. Yamada, K. Maeda & Mikata	5	1	6
Microbotryomycetes			
Sporidiobolales			
Sporidiobolaceae			
<i>Rhodotorula diobovata</i> (S.Y. Newell & I.L. Hunter) Q.M. Wang, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	1	1	2

Примечание: *Т – талломы пальмарии; К – контрольные посевы окружающих воды и воздуха; СУММ – общее число колоний, выделенных с талломов и из контрольных посевов.

и 7 морфотипов были идентифицированы только до уровня рода. Кроме перечисленного выше, было выделено 26 стерильных мицелиальных изолятов (20 с талломов водоросли и 6 из контрольных посевов), отнесенных нами к 12 морфотипам, что было учтено при статистической обработке, а также 51 изолят дрожжей (44 с талломов и 7 из контрольных посевов), которые нам не удалось идентифицировать. Разнообразие идентифицированных грибов представлено 2 семействами и 2 порядками из 2 классов мукоромицетов, 15 семействами и 9 порядками из 5 классов аскомицетов и 4 семействами и 3 порядками из 3 классов базидиомицетов. Наиболее разнообразно представлены классы Sordariomycetes (21 вид), Eurotiomycetes (11 видов) и Dothideomycetes (9 видов). Наиболее обильны были классы Sordariomycetes (204 изолята) и Dothideomycetes (128 изолятов). Из видов наиболее обильным и широко распространенным был *Acremonium fuci* (130 колоний в 16 образцах). Кроме того, довольно частыми и обильными были *Cladosporium herbarum* (57 колоний в 9 образцах), *Sarocladium strictum* (26 колоний в 13 образцах) и *Cladosporium cladosporioides* (20 колоний в 10 образцах). Только четыре вида известны как облигатно-морские: *Acremonium fuci*, *Cladosporium salinae*, *Paradendryphiella arenaria* и *P. salina*. Все остальные обнаруженные виды часто встречаются в морях, но также обычны и широко распространены в различных наземных экотопах, в том числе – в почвах данного района [28].

В целом, можно отметить следующее: состав и структура микобиоты поверхности исследованных водорослей и окружающей среды (контроль) различаются между собой (только 11 общих видов из 8 родов), что приводит к выводу о формировании специфических комплексов грибов в уникальном местообитании – на поверхности талломов пальмари. Это подтверждается также тем, что полученные нами результаты по микобиоте поверхности пальмари заметно отличаются от известных данных о микобиоте морских грунтов в районе исследования [20], где наиболее распространенными были виды из родов *Tolyposcladium* и *Penicillium*, а также анаморфа *Pseudogymnoascus pannorum*. Кроме того, выявленная микобиота отличается от исследованных ранее в этом же районе бурых водорослей из родов *Fucus* [3], а также *Ascophyllum* и *Pelvetia* [4], на поверхности которых преобладали в основном грибы из рода *Penicillium*. Представители рода *Cladosporium* в целом были довольно обычны, хотя в меньшей степени, чем в нашей работе, а *A. fuci* вообще был редок. На фукусах обильными были представители рода *Paradendryphiella*. *Cephalosporium*-подобные анаморфы (*Acremonium* и другие) значительно чаще выделялись из внутреннего пространства *A. nodosum* после стерилизации поверхности, чем с его поверхности [4]. Подобное исследование ми-

кобиоты бурых водорослей из рода *Sargassum* на Дальнем Востоке [5] также показало отличную от полученной нами картину, где наиболее обильными, в зависимости от вида хозяина, были *Cladosporium cladosporioides* или этот же вид в комплексе с *Trichoderma viride*, *Penicillium simplicissimum*, *P. thomii* и *P. roquefortii*. Изучение эпифитных сообществ грибов на различных, в том числе – красных, водорослях у побережья Египта [13] показало преобладание во всех случаях представителей родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Аналогичные результаты были показаны и при исследовании поверхностной мико- и микробиоты красных, бурых и зеленых макрофитов у побережья Китая [11]. Сравнение с поверхностью различных водорослей, а также окружающей среды (грунтов в первую очередь) в районе исследования определенно позволяет заключить, что на поверхности красной водоросли *P. palmata* создаются условия для формирования уникальных микокомплексов.

Самый массовый из выделенных нами видов – *A. fuci* впервые был описан как эндофит бурой водоросли *Fucus serratus* [7]. Но, согласно последующим исследованиям, данный вид не является специфическим эндофитом фукусов, а широко распространен в прибрежных зонах умеренных и холодных морей и регулярно выделяется из разнообразных морских местообитаний [4]. Хотя его заметное преобладание ранее не было отмечено ни в каких экотопах. Остальные наиболее распространенные в нашем исследовании виды – *C. herbarum*, *C. cladosporioides* и *S. strictum* – хотя и распространены в наземных ценозах, но также обычны в различных морских экотопах, а в некоторых случаях могут даже преобладать [28].

С поверхности *P. palmata* было выделено относительно большое количество дрожжевых колоний. Идентифицированные нами виды ранее неоднократно обнаруживались в морской среде. Вид *Vishniacozyma foliicola*, хотя и описан на материалах с листьев растений из Китая, однако известны его многочисленные изоляты из вод Южного океана (данные коллекции CBS – CBS-KNAW culture collection). *Papiliotrema fonsecae* ранее неоднократно выделялся из морской или прибрежной среды в ЮАР, США, Германии, Португалии (данные NCBI – National Center for Biotechnological Information). Однако только вид *Sakaguchia dacryoidea* можно считать преимущественно «морским»: его описание было сделано на изолятах из вод Индийского, Тихого и Южного океанов, также известны его штаммы из Атлантики (данные коллекции CBS и NCBI). Дрожжи, обнаруженные в ходе нашего исследования на *P. palmata*, ранее не отмечались на других беломорских макрофитах (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Odonthalia dentata* и *Saccharina latissima*), что может указывать на специфичность дрожжевого населения, формирующегося на разных видах водорослей [29].

При исследовании микотоксинов, содержащихся в талломах различных водорослей Кандакшского залива [9], было обнаружено относительно низкое их содержание в талломах *P. palmata*. В частности, были обнаружены только три группы микотоксинов (из анализировавшихся 16) в относительно невысоких концентрациях. Наше исследование микобиоты косвенно подтверждает такие результаты. Наиболее массовый вид в нашем исследовании – *A. fuci* – не известен как токсинообразующий. В то же время, выявленные упомянутыми авторами токсины продуцируют в основном виды из родов *Alternaria*, *Penicillium* и *Aspergillus*, которые не обнаружены, или редки на исследованных нами талломах.

Влияние возраста на состав и структуру микобиоты талломов. В многолетнем талломе *Palmaria palmata* можно выделить более старые (перезимовавшие) части и более молодые, образовавшиеся в текущем сезоне (рис. 1). Старые части, как правило, выглядят деградировавшими, зачастую слабо окрашенными, они в основном мельче, чем молодые. Учитывая такую разницу во внешнем виде и состоянии разных частей таллома, мы провели проверку влияния возраста на состав и структуру микобиоты.

Ни общее количество колоний, ни количество колоний дрожжевых грибов, выделенных со старых и молодых частей талломов, не различаются принципиально. Индексы разнообразия Шеннона также довольно близки по значению и составляют 2,65 для старых частей и 2,56 – для молодых. При этом сходство между этими двумя группами довольно высоко: значение индекса Сьеренсена-Чекановского составило 69%. Применение многомерного шкалирования (MDS) не дало четкой картины разделения вариантов по фактору возраста. В соответствии с процедурой ANOSIM значение фактора возраста части таллома не подтверждается (уровень значимости 29,2%). При этом мы можем отметить некоторые особенности структуры микобиоты старых и молодых частей талломов. На молодых краевых зонах и пролификациях преобладают виды рода *Acremonium* и подобные, особенно *A. fuci* (38%), *S. strictum* (8%) и *A. charticola* (5%). Кроме того, относительно высокое обилие у видов из родов *Cladosporium* (18%) и *Penicillium* (7%). В микобиоте старых частей высока доля *A. fuci* (38%) и *S. strictum* (8%), а также представителей рода *Penicillium* (10%). Однако в этом случае выше обилие темноокрашенных грибов (30%), в частности – видов из рода *Paradendryphiella* (11%). Наряду с общими чертами (высокое обилие *Cephalosporium*-подобных грибов), можно также отметить и некоторые различия (более высокая доля *Paradendryphella* и других темноокрашенных, а также *Penicillium* на старых частях талломов) в поверхностной микобиоте талломов пальмарии разного возраста.

Влияние местообитания на состав и структуру микобиоты. Как мы уже отмечали, водоросль *Palmaria palmata* интересна тем, что обитает от средней литорали до сублиторали. На границах обитания создаются принципиально различные условия: на верхней границе распространения – регулярная смена периодов осушения и затопления, на нижней – постоянное существование в водной среде. Учитывая такую разницу в условиях существования особей этой водоросли, мы провели проверку влияния местообитания на состав и структуру микобиоты.

В данном случае сразу обращает на себя внимание различие в численности выделенных грибов. С поверхностей талломов литоральной популяции *P. palmata* было выделено примерно в пять раз больше колоний мицелиальных грибов, чем с поверхности сублиторальной. С дрожжевыми грибами ситуация обратная: заселенность сублиторальной популяции примерно в пять раз выше, чем литоральной. Индексы разнообразия при этом были довольно высокими в обоих случаях: немного выше для литоральных образцов (2,69), чем для сублиторальных (2,33). Индекс сходства Сьеренсена между литоральными и сублиторальными образцами низок, составляет всего 26%. Диаграмма многомерного шкалирования (рис. 2) наглядно демонстрирует группировку образцов литорали отдельно от образцов сублиторали; точка, соответствующая воде с литорали, находится между точками образцов с литорали и сублиторали; точка, соответствующая воде с сублиторали, находится рядом с точками образцов с сублиторали; точка, соответствующая контролю воздуха, располагается отдельно. Таким образом, фактор локализации оказался важен не только для талломов водоросли, но и для окружающей воды. В соответствии с процедурой ANOSIM значение фактора локализации очень хорошо подтверждается (уровень значимости 0,1%). В микобиоте литоральных образцов преобладают виды рода *Acremonium* и подобные им – 53% общего числа изолятов. Из них наиболее многочисленны *A. fuci* (38%) и *S. strictum* (6%). Далее по обилию идет род *Cladosporium* (17,5%), представленный здесь всеми обнаруженными видами. Интересно, что из всех образцов с литорали наиболее обильным и частым представителем рода *Cladosporium* был *C. herbarum*, также наиболее обильный в контроле воздуха. Видимо, в формировании микобиоты литоральной популяции пальмарии участвуют пропагулы, переносимые не только водой, но также и воздухом. Облигатные морские *Paradendryphiella* spp. демонстрируют здесь такое же обилие, как обычные почвенные *Penicillium* (7%). Остальные виды представлены единичными колониями. В сублиторальных образцах также наиболее обильны *A. fuci* (28%) и *S. strictum* (14%). Несколько меньший, но также заметный вклад вносят

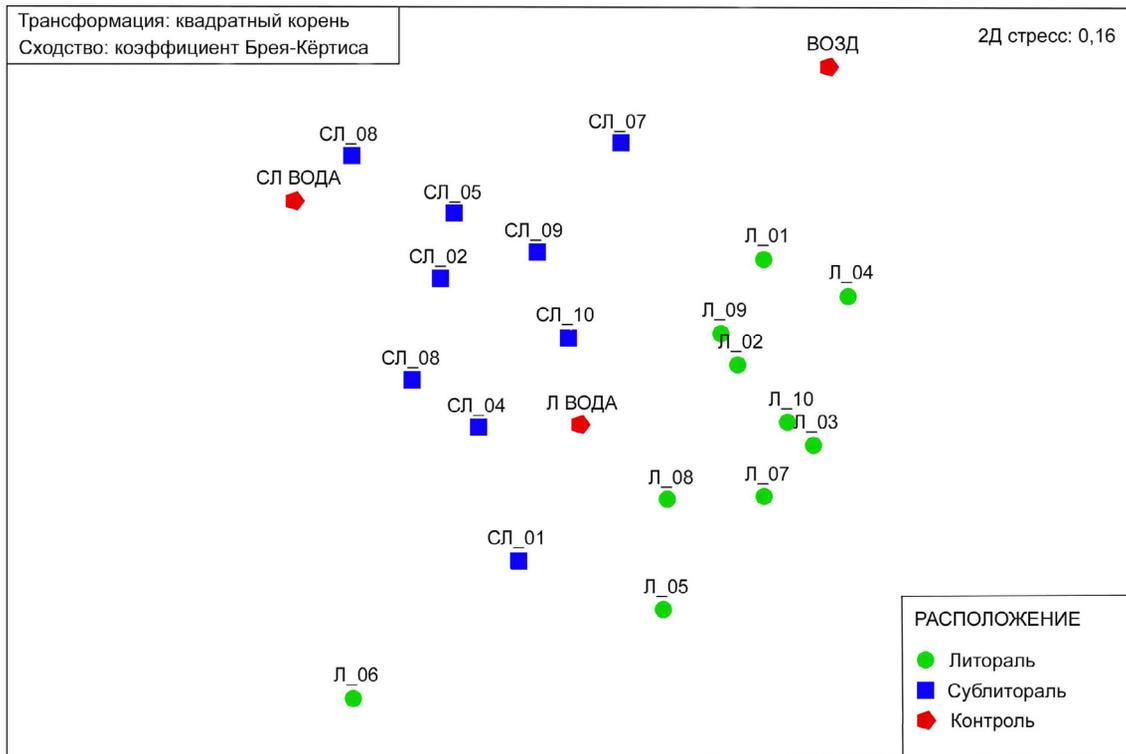


Рис. 2. Диаграмма многомерного шкалирования (MDS) для исследованных вариантов по признаку местообитания. Пояснения. Л_01-Л_10 – образцы с литорали; СЛ_01-СЛ_10 – образцы с сублиторали; Л ВОДА – вода литорали (контроль); СЛ ВОДА – вода сублиторали (контроль); ВОЗД – воздух (контроль).

темноокрашенные виды: *C. cladosporioides* (8%), *C. herbarum* (4%) и *Paradendryphiella* spp. (8%). Общее обилие стерильных изолятов в образцах сублиторали почти в 10 раз выше (24%), чем в образцах с литорали.

Итак, впервые в Белом море мы изучили микобиоту поверхности талломов широко распространенной в холодноводных морях съедобной красной водоросли *Palmaria palmata*. Мы обнаружили, что поверхность этой водоросли – уникальное в своем роде местообитание, где формируются специфические сообщества грибов. При этом состав поверхностной микобиоты заметно различается у пальмарий, обитающих на верхней (на литорали) и нижней (в сублиторали) границах распространения вида. Наиболее обильным и распространенным в исследованных нами образцах оказался вид *Acremonium fuci*, описанный как эндифит бурой водоросли *Fucus serratus*, но, как показали дальнейшие исследования, широко распространенный в различных местообитаниях холодноводных морей, хотя и не известный ранее как преобладающий в каких-либо из них. Кроме того, на поверхности исследованной водоросли обычны такие темноокрашенные грибы, как представители родов *Cladosporium* и *Paradendryphiella*. Они являются обычными морскими обитателями, хотя и не всегда настолько обильны. В то же время, на талломах пальмарии обнаружено мало

представителей рода *Penicillium* и *Pseudogymnoascus* и вообще не обнаружено видов из родов *Tolypocladium* и *Trichoderma*, которые, хотя и являются наиболее распространенными в почвах холодных регионов, также обычны в различных экотопях Белого моря. Таким образом, микобиота, формирующаяся на поверхности *Palmaria palmata* – специфична и отличается от микобиоты, известной для поверхности других водорослей и внешней среды в данном районе.

Идентификация мицелиальных грибов, а также статистическая обработка результатов поддержаны Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение 075-15-2021-1396). Идентификация дрожжей выполнена в рамках темы государственного задания №121040800174-6 «Почвенные микробиомы: геномное разнообразие, функциональная активность, география и биотехнологический потенциал», а также в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Исследования проводили без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Raghukumar S. Fungi in coastal and oceanic marine ecosystems. Germany: Springer, 2017. 378 pp.
2. Satheesh S., Siddik A.A., Ba-Akdah M.A., Al-Sofyani A.A. An introduction to the ecological significance of seaweeds on coastal ecosystems // Biotechnological applications of seaweeds / Ed. E. Nabti. N.Y.: Nova Sci. Publ. Inc., 2017. P. 1–14.
3. Бубнова Е.Н., Куреев Я.В. Сообщества грибов на талломах бурых водорослей рода *Fucus* в Кандалакшском заливе Белого моря // Микол. фитопатол. 2009. Т. 43. № 5. С. 20–29.
4. Коновалова О.П., Бубнова Е.Н. Микобиота бурых водорослей *Ascophyllum nodosum* и *Pelvetia canaliculata* (Фaeоpфyсеae, Fucales) в Кандалакшском заливе Белого моря // Микол. фитопатол. 2011. Т. 45. № 3. С. 240–248.
5. Киричук Н.Н., Пивкин М.В. Вторичные морские грибы, ассоциированные с бурыми водорослями рода *Sargassum* залива Петра Великого (Японское море) // Микол. фитопатол. 2015. Т. 49. № 3. С. 146–150.
6. Zuccaro A., Schulz B., Mitchell J.I. Molecular detection of ascomycetes associated with *Fucus serratus* // Mycol. Res. 2003. Vol. 107. N 12. P. 1451–1466.
7. Zuccaro A., Sammerbell R.C., Gams W., Schroers J.I., Mitchell L.I. A new *Acremonium* species associated with *Fucus* spp., and its affinity with a phylogenetically distinct marine *Emericellopsis* clade // Stud. Mycol. 2004. Vol. 50. N 2. P. 283–297.
8. Zuccaro A., Schoch C.L., Spatafora J.W., Kohlmeyer J., Draeger S., Mitchell J.I. Detection and identification of fungi intimately associated with the brown seaweed *Fucus serratus* // Appl. Environ. Microbiol. 2008. Vol. 74. N 4. P. 931–941.
9. Kononenko G.P., Burkin A.A., Georgiev A.A., Georgieva M.L. Mycotoxins in macroalgae from the Velikaya Salma strait of the Kandalaksha Gulf of the White Sea // Russ. J. Mar. Biol. 2021. Vol. 47. N 1. P. 480–488.
10. Railkin A., Ganf T., Manylov O. Marine biofouling. CLC Press, 2003. 303 pp.
11. Chen J., Zang Y., Yang Z., Qu T., Sun T., Liang S., Zhu M., Wang Y., Tang X. Composition and functional diversity of epiphytic bacterial and fungal communities on marine macrophytes in an intertidal zone // Front. Microbiol. 2022. Vol. 13: 839465.
12. Seshadri R., Sieburth J.N. Cultural estimation of yeasts on seaweeds // Appl. Microbiol. 1971. Vol. 12. N 4. P. 507–512.
13. Abdel-Gawad K.M., Hifney A.F., Issa A.A Goma M. Spatio-temporal, environmental factors, and host identity shape culturable-epibiotic fungi of seaweeds in the Red Sea, Egypt // Hydrobiologia. 2014. Vol. 740. N 1. P. 37–49.
14. Mouritsen O.G., Dawczynski C., Duelund L., Jahreis G., Vetter W., Schröder M. On the human consumption of the red seaweed dulse (*Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr) // J. Appl. Phycol. 2013. Vol. 25. N 6. P. 1777–1791.
15. Grote B. Recent developments in aquaculture of *Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr: cultivation and uses // Rev. Aquac. 2019. Vol. 11. N 1. P. 25–41.
16. Voskoboinikov G.M., Ryzhik I.V., Salakhov D.O., Metelkova L.O., Zhakovskaya Z.A., Lopuchanskaya E.M. Absorption and conversion of diesel fuel by the Red Alga *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta): the potential role of alga in bioremediation of sea water // Russ. J. Mar. Biol. 2020. Vol. 46. N 2. P. 113–119.
17. Lopes D., Melo T., Meneses J., Abreu M.H., Pereira R., Domingues P., Lillebo A.I., Calado R., Domingues M.R. A new look for the red macroalga *Palmaria palmata*: a seafood with polar lipids rich in EPA and with antioxidant properties // Marine Drugs. 2019. Vol. 17. N 9: 533.
18. Nishida Y., Kumagai Y., Michiba S., Yasui H., Kishimura H. Efficient extraction and antioxidant capacity of mycosporine-like amino acid from red algae dulse *Palmaria palmata* in Japan // Marine Drugs. 2020. Vol. 18. N 10: 502.
19. Moore J.E., Xu J., Millar C. Diversity of the microflora of edible macroalga *Palmaria palmata* // Food Microbiol. 2002. Vol. 19. N 2–3. P. 249–257.
20. Kohlmeyer J., Kohlmeyer E. Marine mycology, the higher fungi. N.Y.: Academic Press, 1979. 691 pp.
21. Flewelling A.J., Ellsworth K.T., Sanford J., Forward E., Johnson J.A., Gray C.A. Macroalgal endophytes from the atlantic coast of Canada: a potential source of antibiotic natural products? // Microorganisms. 2013. Vol. 1. N 1. P. 175–187.
22. Flewelling A.J., Currie J., Gray C.A., Johnson J.A. Endophytes from marine algae: promising sources of novel natural products // Curr. Sci. 2015. Vol. 109. N 1. P. 88–111.
23. Nadson G.A., Burgvits G.K. Yeast of the Arctic Ocean // Doklady Akademii Nauk SSSR. 1931. N 4. P. 103–110.
24. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of the soil fungi. Acad. Press, 1980. 1070 pp.
25. Bissett J. Notes on *Tolyptocladium* and related genera // Can. J. Bot. 1983. Vol. 61. N 5. P. 1311–1329.
26. Zalar P., Hoog G.S. de, Schroers H.-J., Crous P.W., Groenewald J.Z., Gunde-Cimerman N. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments // Stud. Mycol. 2007. Vol. 58. P. 157–183.
27. Glushakova A.M., Kachalkin A.V. Endophytic yeasts in *Malus domestica* and *Pyrus communis* fruits under anthropogenic impact // Microbiology. 2017. Vol. 86. N 1. P. 128–135.
28. Бубнова Е.Н., Грум-Гржимайло О.А., Козловский В.В. Состав и структура сообществ мицелиальных грибов в донных грунтах Белого моря // Вестник Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2020. Т. 75. № 3. С. 182–187.
29. Kachalkin A.V. Yeasts of the White Sea intertidal zone and description of *Glaciozyma litorale* sp. nov. // Antonie van Leeuwenhoek. 2014. Vol. 105. N 6. P. 1073–1083.

Поступила в редакцию 11.11.2022

После доработки 23.01.2023

Принята в печать 04.02.2023

RESEARCH ARTICLE

Mycobiota of the red algae *Palmaria palmata* in the Kandalaksha Bay of the White Sea

M.I. Kovalenko¹, M.L. Georgieva^{1, 2} , V.V. Kozlovsky³, I.A. Maximova⁴ ,
A.V. Kachalkin^{4, 5} , E.N. Bubnova^{6,*} 

¹*Mycology and Alogology Department, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;*

²*Gause Institute of New Antibiotics, St. Bolshaya Pirogovskaya, 11, Moscow, 119021, Russia;*

³*Marine research center, Moscow State University, office 402, MSU Science park, Leninskie Gory 1–77, 119234, Moscow, Russia;*

⁴*Soil Biology Department, School of Soil Sciences, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;*

⁵*Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences, pr. Nauki 5, Pushchino, 142290 Moscow Region, Russia;*

⁶*White Sea Biological Station, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia*
*e-mail: katya.bubnova@wsbs-msu.ru

This is a first report about the diversity of micromycetes associated with living thalli of the edible red algae *Palmaria palmata* (dulce). We collected samples in the Kandalaksha Bay of the White Sea at upper (10 thalli in the littoral) and lower (10 thalli in the sublittoral) lines of this species distribution. The work was carried out by cultural methods, fungi were isolated from the surface of thalli. From one thallus from 0 to 55 colonies belongs to 0–24 morphotypes were isolated. The total diversity was 52 morphotypes, of which 48 were mycelia and 4 were yeast. All identified yeasts belong to Basidiomycota; among filamentous fungi, 2 species belongs to Zygomycota, and the rest belongs to Ascomycota, the vast majority of which are represented by anamorphic stages. The most diverse genera were *Acremonium* (10 morphotypes), *Penicillium* (9) and *Cladosporium* (6); the most numerous are *Acremonium* (158 colonies) and *Cladosporium* (103 colonies). *Acremonium fuci* is the most common species on the studied thalli (122 colonies on 15 thalli). The most important factor for the formation of the surface mycobiota of dulce is the habitat: littoral and sublittoral algal populations differ significantly in the fungal communities number and structure. The thalli of the littoral population are much richer in fungi. The mycobiota of littoral samples is dominated by dark-colored species, as well as *Acremonium fuci* and *Sarocladium strictum*. While the mycobiota of sublittoral samples is dominated by light-colored species, and most of the isolated yeasts were also founded here.

Keywords: *marine fungi, seaweeds, Rhodophyta, Palmaria, dulce, White Sea*

Funding: The identification of filamentous fungi, as well as the statistical processing of the results, was supported by Russian Ministry of Science and Higher Education (Grant Number 075-15-2021-1396). Yeast identification was carried out within the framework of the state task No. 121040800174-6 “Soil microbiomes: genomic diversity, functional activity, geography and biotechnological potential,” as well as within the framework of the Development Program of the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Lomonosov Moscow State University “The future of the planet and global environmental changes.”

Сведения об авторах

Коваленко Мария Игоревна – бакалавр кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-64; e-mail: mi.kovalenko@mail.ru

Георгиева Марина Леонидовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ; науч. сотр. лабораторий таксономического изучения и коллекции культур микроорганизмов Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе. Тел.: 8-495-939-27-64; e-mail: i-marina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7657-6474>

Козловский Владислав Владимирович – канд. биол. наук, нач. отдела экологии Центра морских исследований МГУ. Тел.: 8-495-648-65-88; e-mail: vladkst@gmail.com

Максимова Ирина Аркадьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ. Тел.: 8-495-939-36-03; e-mail: maximova.irina@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3030-6417>

Качалкин Алексей Владимирович – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ, вед. науч. сотр. Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов РАН Пушчинского научного центра биологических исследований. Тел.: 8-495-939-36-03; e-mail: kachalkin_a@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4494-2468>

Бубнова Екатерина Николаевна – канд. биол. наук, науч. сотр. Беломорской биостанции имени Н.А. Перцова биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-44-95; e-mail: katya.bubnova@wsbs-msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6921-8724>