

*На правах рукописи*



**ПОПКОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА**

**ЭКОЛОГИЯ СООБЩЕСТВ ОБРАСТАНИЙ ФОТОТРОФОВ В  
ПОДЗЕМНЫХ ПОЛОСТЯХ**

03.02.08 – экология (биология)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Москва – 2021**

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов»

**Научный  
руководитель:**

доктор химических наук, профессор  
**Зволинский Валентин Петрович**

**Официальные  
оппоненты:**

**Камнев Александр Николаевич**  
доктор биологических наук, федеральное  
государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования «Московский  
государственный психолого-педагогический  
университет», профессор факультета социальной  
коммуникации

**Ларионов Максим Викторович**

доктор биологических наук, доцент, федеральное  
государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования «Российский  
государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева», ведущий научный  
сотрудник Научно-образовательной лаборатории  
«Перспективных технологий»

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Ульяновский государственный университет»

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021г. в \_\_\_\_\_ ч. на заседании диссертационного совета Д 212.025.07 при ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» по адресу: 600000, г. Владимир, ул. Горького, 87, корп.1, ауд.335.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ВлГУ и на сайте <http://diss.vlsu.ru/>.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, можно присылать по адресу: 600000, г. Владимир, ул. Горького, 87, кафедра биологии и экологии.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Кулагина Екатерина Юрьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Подземные полости представляют собой уникальные, климатически стабильные местообитания. В условиях низких положительных температур, высокой влажности, недостатка естественного освещения и питательных веществ формируются относительно устойчивые сообщества, структура и функционирование которых могут отличаться от поверхностных.

Среди сообществ пещер выделяют фототрофные сообщества обрастаний, развивающиеся на поверхности стен, сводов, натечных образований (Roldán, Hernández-Maríné, 2009). В основном, их локализация приурочена к входным зонам пещер, куда попадает естественный свет. Однако в случае эксплуатации полости в качестве туристического объекта, вокруг источников искусственного освещения также образуются фототрофные сообщества (ламповая флора). К настоящему моменту для некоторых стран мира изучен таксономический состав водорослей и цианобактерий входных участков пещер, а также сообществ ламповой флоры (Selvi, Altuner, 2007; Абдуллин, 2009; Mulec, Kosi, 2009; Martinez, Asencio, 2010; Мазина, Максимов, 2011; Lamprinou et al., 2014; Cennamo et al., 2012; Czerwik-Marcinkowska, 2013; Popović et al., 2015). Есть регионы, где инвентаризация биоразнообразия не проводилась, не исследована динамика развития фототрофов в экскурсионных пещерах и вторичная сукцессия сообществ ламповой флоры после ее удаления.

Обсуждаются варианты адаптаций фототрофных видов к условиям пещер, но исследования носят фрагментарный характер (Hernandez-Marine et al., 1999; Giordano et al., 2000; Hoffmann, 2002; Mulec et al., 2008). Возникает необходимость в комплексном экологическом анализе сообществ фототрофов подземных полостей, включающем не только выявление биоразнообразия, но и оценку динамики развития сообществ, установление экофизиологических особенностей и адаптивных возможностей видов, развивающихся в условиях подземной среды.

**Цель исследования** – установление биоразнообразия и межвидовых отношений в сообществах обрастаний фототрофов входных участков и ламповой флоры пещер, а также влияния условий среды на виды-доминанты.

Для достижения поставленной цели решались следующие *задачи*:

1) выявить состав и структуру сообществ обрастаний фототрофов входной зоны в меловых пещерах Воронежской области, известняковых пещерах Молдавии и Абхазии, Краснодарского края, а также сообществ ламповой флоры пещер Абхазии и Краснодарского края;

2) провести сравнительный анализ сообществ обрастаний фототрофов, развивающихся в зонах искусственного и естественного освещения, в экскурсионных пещерах Ахштырская и Новоафонская им. Г.Ш. Смыр;

3) выявить межвидовые взаимодействия в сообществах обрастаний пещер между видами различных трофических уровней;

4) определить пределы толерантности выделенных видов-доминантов фототрофов по отношению к температурному фактору;

5) установить способность штаммов зеленых водорослей и цианобактерий, выделенных из подземных полостей, к миксотрофному типу питания на примере *Chlorella vulgaris*, *Stichococcus bacillaris*, *Leptolyngbya foveolaria*, *Scytonema drilosiphon*.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Преобладание представителей отдела Chlorophyta в таксономической структуре некоторых меловых пещер связано с повышенной освещенностью таких местообитаний (повышенным альбедо субстрата). Приоритетной жизненной формой фотосинтезирующих организмов пещер является коккоидная, колониальная, наиболее приспособленная к существованию в пористой матрице породы за счет мелких размеров и слизистых чехлов.

2. Наибольшее биоразнообразие фототрофных организмов характерно для пещер с максимальным числом биотопов. Микроклиматические параметры местообитаний не влияют на биоразнообразие фототрофов пещер, за исключением влажности воздуха.

3. Вероятность кооперации между видами различных трофических уровней максимальна у организмов, выделенных из одного сообщества одной пещеры, которые адаптированы к совместному существованию.

4. Способность штаммов видов-доминантов *Chlorella vulgaris*, *Stichococcus bacillaris*, *Leptolyngbya foveolaria*, *Scytonema drilosiphon* переходить от автотрофного к гетеротрофному типу питания дает преимущества для выживания видов в условиях стресса, связанных с длительными периодами недостатка освещения.

**Научная новизна.** Впервые определено биоразнообразие сообществ фототрофов подземных келий Старого Орхя, пещер Голова Отапа, Аняшка, а также грота Симона Кананита. Описаны сообщества пещер-источников, выделены типы сообществ, приуроченные к основным местообитаниям входных зон пещер. Выявлена преимущественная роль фототрофных сообществ входной зоны для формирования ламповой флоры. Установлены пределы толерантности для видов-доминантов по отношению к температурному фактору. Установлены межвидовые взаимодействия между микромицетами и водорослями или цианобактериями пещер.

**Практическая значимость работы.** Результаты исследования могут быть использованы при анализе путей заноса и стратегии развития сообществ фототрофов музеефицированных пещер, а также для моделирования развития

ламповой флоры в подземных полостях и оптимизации путей восстановления пещер, нарушенных в результате антропогенного воздействия.

Выделение организмов с широкой экологической амплитудой, а также убиквистов, космополитов, способных к миксотрофии является базой для создания алгоритма подбора микроорганизмов для создания биопрепаратов с целью ремедиации деградированных земель.

Материалы диссертации могут быть использованы в учебном процессе при проведении практических работ по курсам «Экология» и «Биоразнообразии».

**Апробация работы.** Основные положения и выводы диссертационного исследования прошли апробацию на VI Всероссийском конгрессе по медицинской микологии (Москва, 2014), Всероссийской молодежной конференции «Биоспелеология Кавказа и других районов России» (Москва, 2015), V Всероссийском симпозиуме с международным участием «Автотрофные микроорганизмы» (Москва, 2015), Международном научном форуме «Пещеры как объекты истории и культуры» (Воронеж, 2016), Всероссийской молодежной конференции «Биоспелеологические исследования в России и сопредельных государствах» (Москва, 2016), International Youth Scientific Conference Environmental Problems of the Third Millennium Proceeding (Москва, 2016), 4 Съезде микологов России (Москва, 2017), V Международной научной экологической конференции, посвященная 95-летию Кубанского ГАУ (Краснодар, 2017), 12 Молодежной школе-конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2017), IV (XII) Международной ботанической конференции молодых учёных (Санкт-Петербург, 2018), II International Conference «Smart Bio» (Каунас, 2018), 8th International Symposium of Ecologists of Montenegro (Будва, 2019), 9th International Symposium of Ecologists of Montenegro-Virtual Conference (Подгорица, 2020).

**Личный вклад автора** заключается в критическом обзоре данных литературы, отборе образцов из подземных полостей Воронежской обл., республики Молдовы, Краснодарского края и Абхазии, разработке и проведении экспериментов, анализе и обработке экспериментальных данных, обобщении и систематизации результатов, подготовке основных публикаций.

**Публикация результатов.** На основе полученных результатов подготовлен и опубликован 21 научный труд, в том числе 3 статьи – в изданиях, рекомендованных ВАК, а также 4 статьи – в изданиях, включенных в мировые базы научного цитирования.

**Структура и объём работы.** Диссертация изложена на 260 страницах компьютерного текста, состоит из введения, глав, заключения, выводов и приложений, включает 38 таблиц, 156 рисунков, 15 приложений. Список

использованной литературы состоит из 317 источников, в том числе 263 иностранных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СООБЩЕСТВ ОБРАСТАНИЙ, ХАРАКТЕРНЫХ ДЛЯ ПЕЩЕР

На основании данных литературы проанализированы: специфика подземных местообитаний, экологические условия и ресурсы пещер, биоразнообразие сообществ обрастаний подземных экосистем, комплексы физиологических и морфологических адаптаций фототрофов к условиям подземной среды.

### ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Объекты исследования

Исследованы полости естественного (пещеры Республики Абхазия: Новоафонская им. Г.Ш. Смыр, Голова Отапа, Аняшка, Мааникварская, грот Симона Кананита) и искусственного происхождения (пещеры Воронежской области; подземные кельи скального монастыря «Успение Божьей Матери», Республики Молдова). Исследования проводили в подземных полостях, заложенных в известняковых, гипсовых или меловых породах. Объекты различались по степени антропогенной нагрузки и наличию в них водных потоков. Исследованные полости находятся в сходных климатических зонах и характеризуются близкими микроклиматическими параметрами (табл.1).

Таблица 1 – Микроклиматические параметры исследованных полостей

	ГО	НА (лф)	Ах (лф)	Ах (вход)	Ан	НА (вход)	СК	ВО	СО	Маа
CO <sub>2</sub> (ppm)	500-800	300-800	300-500	500	12100	200-300	300	200	300	800- 1200
T (°C)	12-13	11-16	8-14	10-25	14-12	-2 +30	-2 +30	12-15	17-20	-2 +30
H <sub>возд</sub> (%)	72-86	96-98	65-100	60-65	96-100	60-100	20-100	60-80	45-65	86-100

Примечание: ГО – п. Голова Отапа, НА – п. Новоафонская, Ах – п. Ахштырская, Ан – п. Аняшка, СК – грот Симона Кананита, ВО – пещеры Воронежской области, СО – кельи Старого Орхья, Маа – п. Мааникварская, лф – ламповая флора.

#### Методы исследования

**Анализ видового состава и структуры сообществ обрастаний.** Для культивирования водорослей и цианобактерий использовали среды Бристоля и Громова №6 (Гайсина и др., 2008). Для выделения чистых культур применяли метод стекол обрастаний (Нетрусов, 2005) и метод истончающегося штриха (Гайсина и др., 2008). Водоросли и цианобактерии определяли с использованием определителей отечественных и зарубежных авторов (Забелина и др., 1951; Голлербах и др., 1953; Мошкова, Голлербах, 1986; Андреева, 1998; John, Whitton, 2002; Whitton, 2011; Komárek, Anagnostidis, 2005). Мохообразные определяли по Игнатову, Игнатовой (2003, 2004). Систематика цианобактерий и водорослей приведена по Гюри (<http://www.algaebase.org>).

Для экспериментов межвидовых взаимодействий выделяли штаммы микромицетов из сообществ обрастаний, используя методы, рекомендованные для почв (Нетрусов, 2005). Культивирование проводили на среде Чапека-Докса с концентрацией сахарозы 10 г/л, при температуре пещеры и 24°C. По мере образования колоний микромицетов, их выделяли в чистую культуру. Определение видов проводили по Domsch et al. (2007), Ramirez (1982). Систематика микромицетов приведена по базе данных <http://www.mycobank.org>.

Представленность видов оценивали по показателям относительного обилия, относительной встречаемости и встречаемости видов на участках обрастаний в пещерах. Обилие видов в пробах оценивали с применением окуляр-микрометра или камеры Горяева. При высокой плотности организмов в образце из фрагментов обрастаний готовили суспензию, при оценке обилия учитывали разведение. Обилие видов в пробах оценивали по 5-бальной шкале (аналог шкалы Браун-Бланке) и усредняли для каждого участка обрастания в каждый момент времени проведения исследования (Мазина, Максимов, 2011). Доминирующими считали виды, имеющие наибольшее относительное обилие.

Для оценки альфа-разнообразия применяли методы построения графиков ранг/обилие и расчет индексов биоразнообразия (Мегарран, 1992). Использовали индекс Симпсона  $D$  (1) и Шеннона  $H$  (2):

$$D = \sum p_i^2 \quad (1)$$

$$H = -\sum p_i \ln p_i \quad (2),$$

где  $p_i$  – доля особей  $i$ -го вида ( $p_i = n_i / N$ ).

**Статистический анализ.** Кластерный анализ сходства сообществ, основанный на видовом составе, проводили с помощью программных пакетов «Statistica», «SPSS Statistics». Для построения кластеров применяли метрику Евклидова расстояния на основе значений встречаемости видов.

Для оценки сходства видового состава использовали индекс Жаккара и фи-коэффициент (Шмидт, 1980). Строили диаграммы рассеяния по данным двух индексов сходства для каждого кластера.

**Методика совместного культивирования водорослей или цианобактерий с микромицетами.** *Вариант 1: совместное культивирование микромицетов и водорослей или цианобактерий, выделенных из сообществ одной пещеры.* Использовали шесть штаммов *Ch. vulgaris* Beyerinck, пять штаммов *L. foveolara* (Gomont) Anagnostidis & Komárek, три штамма *Nostoc punctiforme* Hariot. В качестве тест-объектов использовали штаммы микромицетов, выделенных из фототрофных сообществ входной зоны: четыре штамма *Sporotrichum pruinosum* Gilman & Abbott, пять штаммов *Penicillium chrysogenum* Thom и три штамма *Penicillium purpurogenum* Stoll.

Совместное культивирование проводили на среде Чапекса-Докса с добавлением среды Громова №6, концентрация сахарозы 0,3%. Культуру водорослей наносили в центр чашки Петри в объеме 0,3 мкл; отступив 1 см от водорослей, наносили микромицеты методом укола по три точки. Культивирование проводили в темноте в течение 7 дней. Оценивали характер роста колоний микромицетов.

*Вариант 2: совместное культивирование микромицетов и водорослей или цианобактерий, выделенных из пещер различных регионов.* Использовали два штамма цианобактерий *N. punctiforme* Hariot, один штамм *Calothrix elenkinii* Kossinsk, два штамма *L. boryana* (Gom.) Anagn. & Kom., пять штаммов зеленых водорослей вида *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina & Punc, а также три клона вида *Nitzschia palea* (Kutz.) W. Sm., один клон *Nitzschia* sp. В качестве тест-объектов использовали штаммы микромицетов, выделенных из сообществ фототрофов входной зоны и ламповой флоры: по 2 штамма *S. pruinosum*, *P. purpurogenum*, *P. chrysogenum* Thom и *P. sp.* Выбраны линии с оптимумом роста при +20°C.

Совместное культивирование проводили на смешанной 2%-й агарозной картофельно-сахарозной среде (Сеги, 1983) и Громова №6 в соотношении 1:1. По поверхности среды распределяли суспензию микромицетов 0,1 мл. Методом капли вносили в четыре равноудаленных точки опытных чашек Петри суспензию водорослей или цианобактерий. Образцы экспонировали в течение 7 суток без освещения при +20°C. Контролем служили штаммы микромицетов и водорослей или цианобактерий, культивированные по отдельности на опытной среде в условиях, идентичных опытным. Оценивали характер роста колоний и морфологию клеток водорослей или цианобактерий и микромицетов, морфологию гиф грибов, а также особенности пограничной зоны между водорослями или цианобактериями и микромицетами.



**Методика определения влияния органических веществ на рост водорослей и цианобактерий.** В качестве объектов исследования выбраны штаммы видов фототрофов-доминантов, выделенных из сообществ обрастаний пещер: *Ch. vulgaris* НА.05.2018 (п. Новоафонская), *St. bacillaris* Ах.05.2019 (п. Ахштырская), *L. foveolara* НА.05.2018 (п. Новоафонская), *S. drilosiphon* НА.05.2018 (п. Новоафонская) – культивируемая форма без карбонатных чехлов. Исследовали возможность использования водорослями и цианобактериями в качестве источника углерода следующих органических веществ: глюкоза, мальтоза, глицерин, малат, ацетат.

Водоросли предварительно культивировали на среде Бристоля. В начале эксперимента определяли исходную оптическую плотность суспензий контрольных культур. Отбирали аликвоты культур 1 мл для вариантов эксперимента: а) без добавления органических веществ, на свету и в темноте (контроль); б) с добавлением органических веществ, на свету и в темноте (опыт). Органические вещества использовали в концентрации 0,5% (масса/объем).

Через десять суток инкубацию завершали и проводили измерение оптической плотности методом спектрофотометрии, рассчитывали удельную скорость роста  $\mu$ :

$$\mu = (N_t - N_0) / t,$$

где  $N_t$  и  $N_0$  – оптическая плотность клеток в начале и в конце эксперимента,  $t$  – продолжительность эксперимента.

**Методика определения температурных оптимумов видов фототрофов, выделенных из пещер.** Для исследования использованы штаммы *Ch. vulgaris* из входных зон пещер с различными температурами и штаммы водорослей из поверхностных местообитаний. Культуры выделяли на среде Бристоля, при температуре полостей 4 °С, 9 °С и при 12 °С для образцов из поверхностных местообитаний.

Проводили культивирование выделенных штаммов в линейке температур от 2 до 46 °С с шагом 2 °С (рис. 1). Аликвоту 1 мл высевали на среду, помещали в термостатируемую ячейку с заданной температурой (точность 0,1 °С). Оценивали среднюю скорость роста, сравнивая численность на 1 и 15 день культивирования. Исследование проводили на культурах, которые находились в стадии экспоненциального роста. Проводили измерение оптической плотности методом спектрофотометрии, рассчитывали численность клеток.

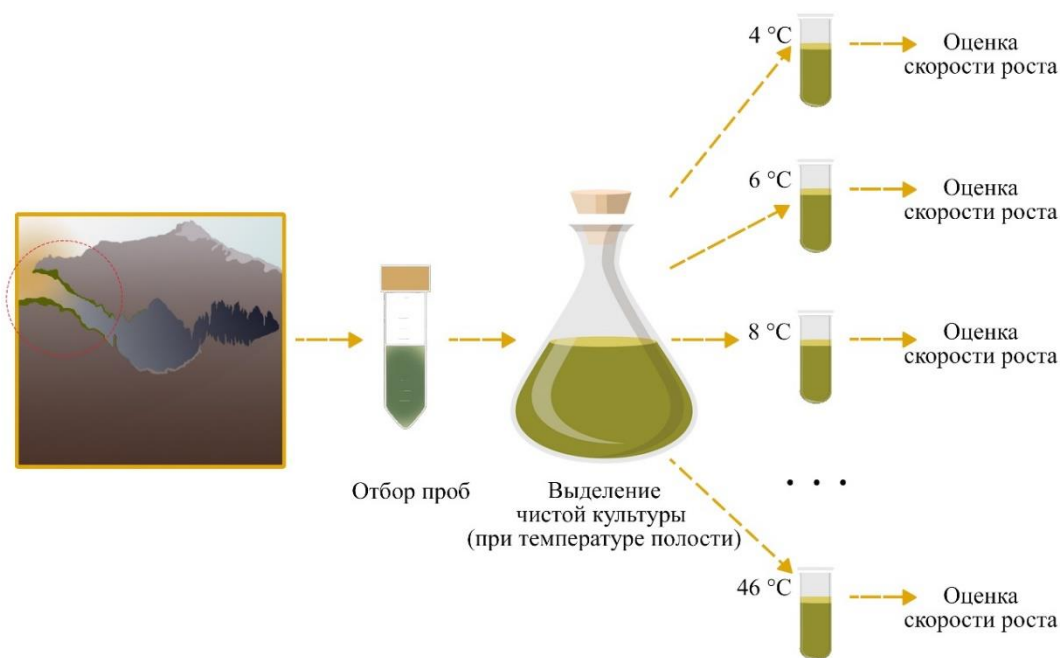


Рисунок 1 – Схема эксперимента по выявлению температурных оптимумов

### Алгоритм исследования

Ниже приведен алгоритм исследования экологических особенностей сообществ обрастаний фототрофов подземных полостей (рис. 2).

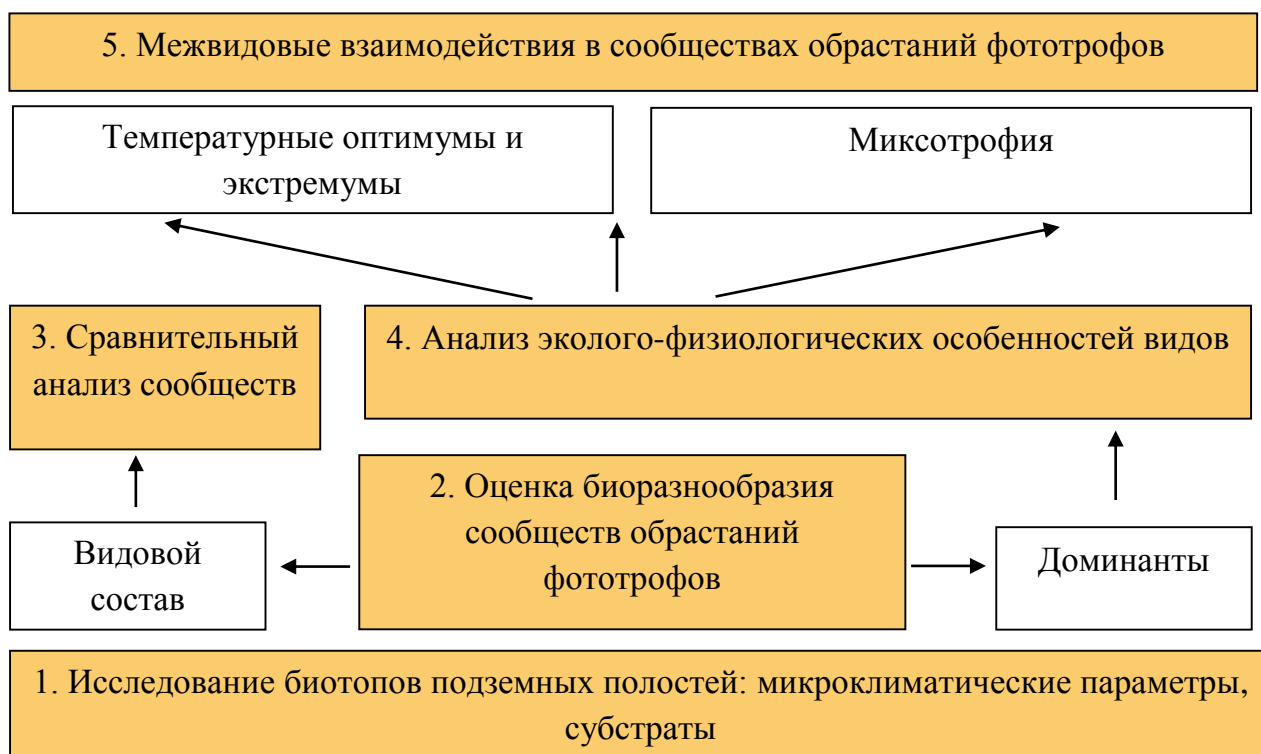


Рисунок 2 – Логическая схема исследования экологических особенностей сообществ обрастаний фототрофов

### ГЛАВА 3. БИОРАЗНООБРАЗИЕ СООБЩЕСТВ ОБРАСТАНИЙ ФОТОТРОФОВ ПЕЩЕР

**Таксономический анализ сообществ обрастаний фототрофов пещер.** Установлен видовой состав и структура сообществ фототрофов в исследуемых подземных полостях. В пещерах Воронежской области выявлено 33 вида, в кельях скального монастыря «Успение Божьей Матери» – 15 видов, в гроте Симона Кананита – 28 видов, в п. Голова Отана – 77 видов, в п. Аняшка – 24 вида, в п. Мааникварская – 17 видов, в зоне естественного входа Новоафонской пещеры – 18 видов, в п. Ахштырская – 74 вида. Таксономическая структура сообществ представлена на рис. 3. Виды отдела Cyanobacteria преобладали в большинстве исследованных полостей. Доминирование цианобактерий в сообществах фототрофов также выявлено в пещерах Европы (Selvi, Altuner, 2007; Czerwik-Marcinkowska, Mrozińska, 2009, 2011; Cennamo et al., 2012; Popović et al., 2015). Цианобактерии можно считать пионерными в генезисе подземных сообществ, поскольку некоторые из них способны фиксировать атмосферный азот (Gallon et al., 1991), а также вырабатывать экзополимерные вещества (Stal, 2000).

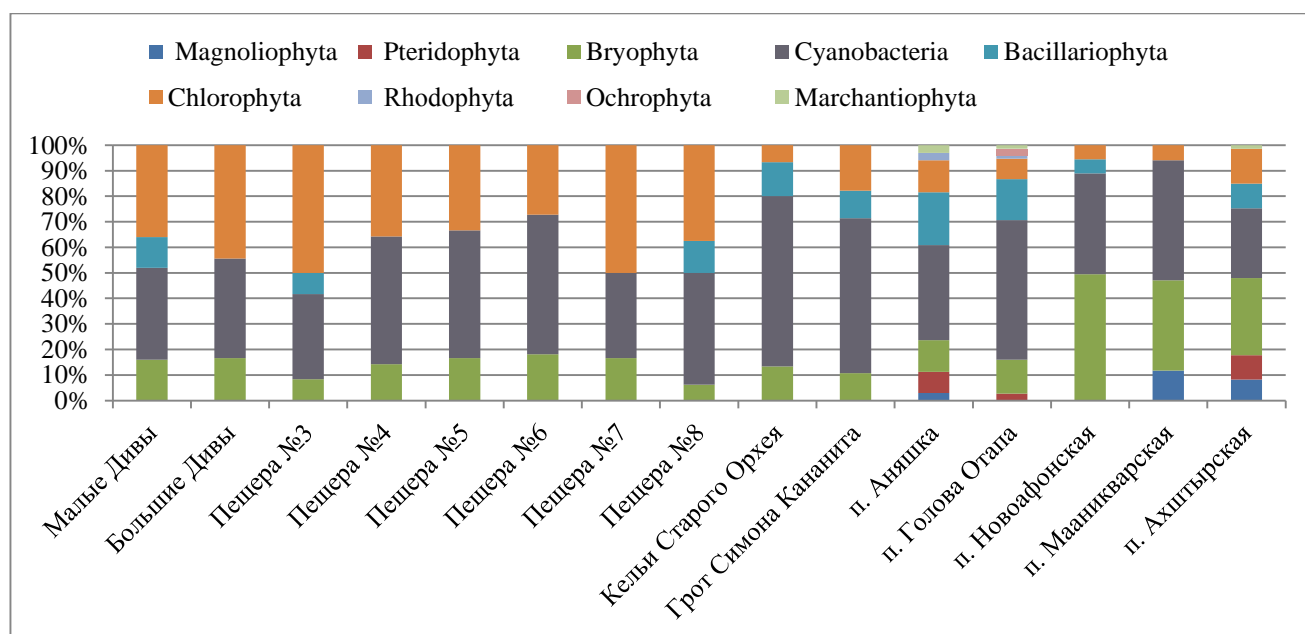


Рисунок 3 – Таксономическая структура сообществ фототрофов исследованных полостей

Отмечено, что среди доминантов сообществ фототрофов исследованных полостей (табл. 2,3, рис. 4 – 11) – один общий вид *Ch. vulgaris*. Зеленые водоросли, относящиеся к роду *Chlorella*, обнаружены в пещерах Европы, Америки и рассматриваются как убиквисты, космополиты, способные колонизировать широкий спектр субстратов, независимо от микроклиматических параметров местообитаний (Macedo et al., 2009).

Таблица 2 – Доминирующие виды фототрофов исследованных полостей

Подземная полость	Вид	Относительное обилие, %
Малые Дивы	<i>Ch. vulgaris</i>	9,93
	Протонема мхов	9,27
	<i>Leptolyngbya boryana</i>	6,36
	<i>Chlorococcum infusionum</i>	4,77
Большие Дивы	<i>Seligeria calcarea</i>	14,61
	Протонема мхов	10,11
	<i>L. boryana</i>	10,11
	<i>Chlorococcum minutum</i>	10,11
	<i>Stichococcus minor</i>	10,11
Пещера №3	Протонема мхов	14,46
	<i>L. foveolara</i>	11,74
	<i>Seligeria calcarea</i>	5,59
	<i>Ch. vulgaris</i>	5,94
Пещера №4	<i>L. foveolara</i>	17,14
	Протонема мхов	11,42
	<i>Leptolyngbya tenuis</i>	8,57
	<i>S. calcarea</i>	7,14
	<i>Jaaginema subtilissimum</i>	5,71
Пещера №5	<i>L. foveolara</i>	20
	Протонема мхов	11,43
	<i>S. calcarea</i>	7,14
Пещера №6	<i>L. foveolara</i>	17,14
	Протонема мхов	14,29
	<i>Jaaginema subtilissimum</i>	11,42
Пещера №7	<i>L. foveolara</i>	14,63
	Протонема мхов	12,19
	<i>L. tenuis</i>	7,32
Пещера №8	<i>Ch. vulgaris</i>	11,9
	<i>Chroococcus minutus</i>	7,14
	<i>J. subtilissimum,</i>	7,14
	<i>L. foveolara</i>	7,14
	<i>Anabaena minutissima</i>	7,14
Кельи Старого Ореха	<i>Gloeocapsa punctata</i>	11,34
	<i>Nitzschia</i> sp.	5,31
	<i>Aphanocapsa muscicola</i>	4,26
	<i>Jaaginema angustissimum</i>	4,26
Грот Симона Кананита	<i>Chlorosarcinopsis minor</i>	7,44
	<i>Humidophila contenta</i>	7,44
	<i>Ch. vulgaris</i>	6,19
	<i>Nostoc microscopicum</i>	5,77

Таблица 2 (продолжение) – Доминирующие виды фототрофов исследованных полостей

п. Аняшка	<i>Hildenbrandia rivularis</i> (поток)	30
	<i>Marshantia polymorpha</i> (орошаемая зона)	16
	<i>Ch. a vulgaris</i> (орошаемая зона)	16
	<i>Barbula</i> sp. (своды)	6,89
	<i>Klebsormidium subtile</i> (своды)	6,89
Естественный вход в п. Новоафонская	<i>Thamnobryum alopecurum</i>	8,70
	<i>H. contenta</i>	6,52
	<i>Brachythecium rutabulum</i>	6,52
	<i>Anomodon attenuatus</i>	6,52
	<i>Amblystegium serpens</i>	6,52
п. Мааникварская	<i>T. alopecurum</i>	11,36
	<i>Nostoc microscopicum</i>	9,09
	<i>Ch. vulgaris</i>	9,09
п. Голова Отапа	<i>Scytonema drilosiphon</i> (своды)	3,91
	<i>Tolypothrix calcarata</i> (своды)	3,91
	<i>Oscillatoria simplicissima</i> (своды)	3,91
	<i>Symploca muscorum</i> (своды)	3,91
	<i>Amphora</i> sp. (поток)	1,5
	<i>M. polymorpha</i> (орошаемая зона)	5,13
	<i>Ch. vulgaris</i> (орошаемая зона)	5,13
	<i>Gloeocapsa rupestris</i> (орошаемая зона)	5,13

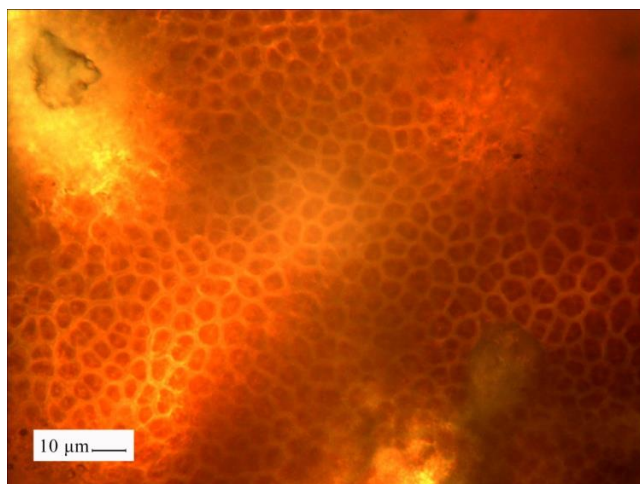


Рисунок 4 – *Hildenbrandia rivularis*  
(п. Голова Отапа)

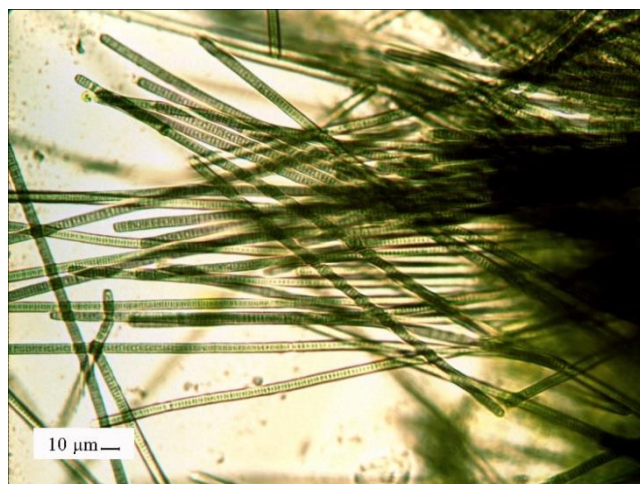


Рисунок 5 – Сообщество нитчатых цианобактерий (п. Голова Отапа)

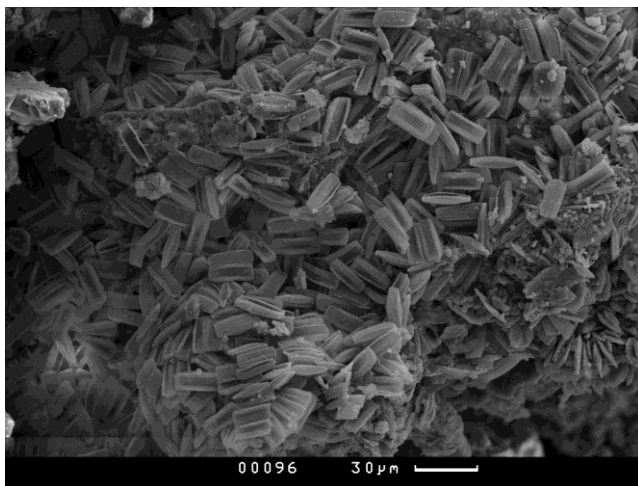


Рисунок 6 – Популяции *Nitzschia* sp. и *Navicula* sp.  
(кельи Старого Орхея)

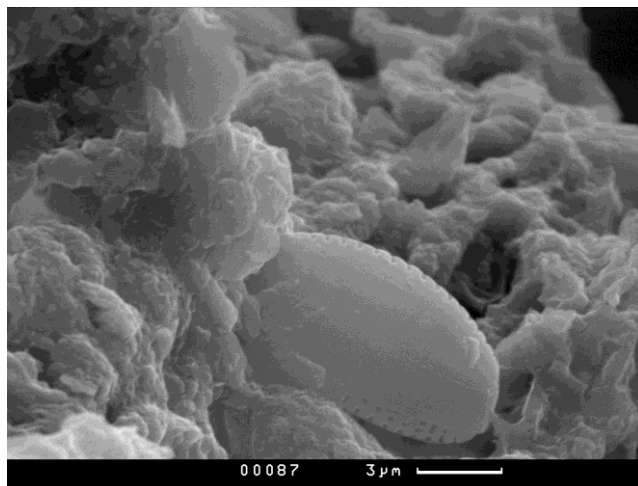


Рисунок 7 – *Amphora* sp. в биопленке  
цианобактерий  
(п. Голова Отапа)

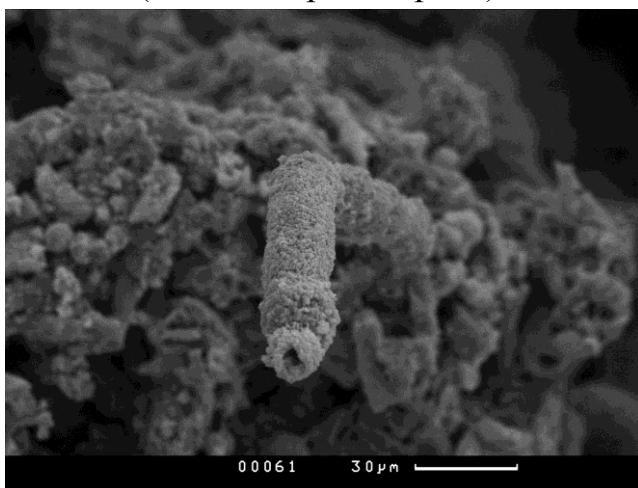


Рисунок 8 – *Potamolinea aerugineo-  
caerulea* f. *calcarea*  
(п. Голова Отапа)

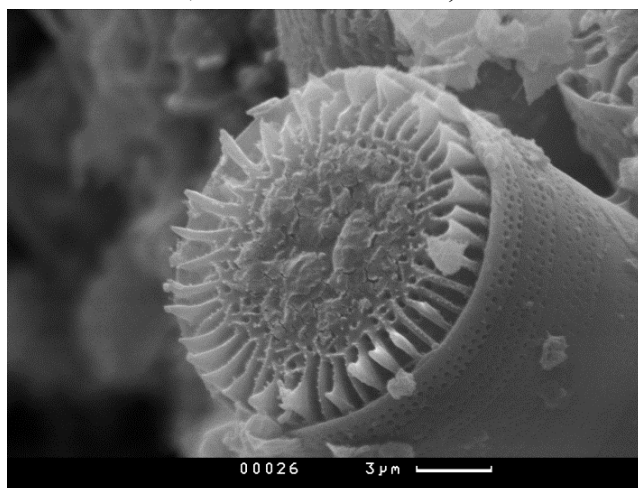


Рисунок 9 – *Orthoseira roeseana*  
(грот Симона Кананита)

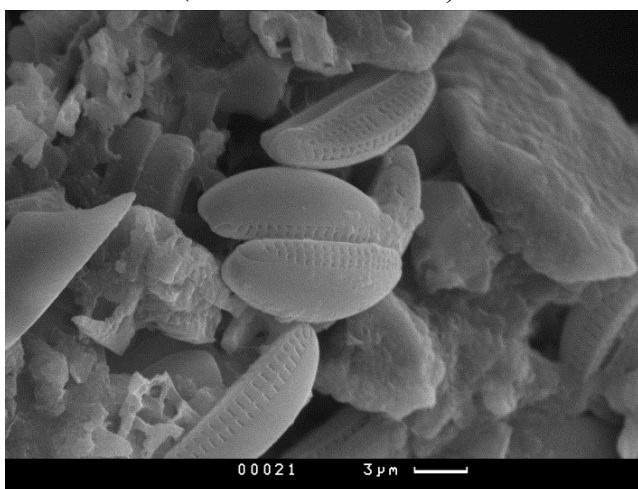


Рисунок 10 – *Amphora* sp.  
(п. Аняшка)

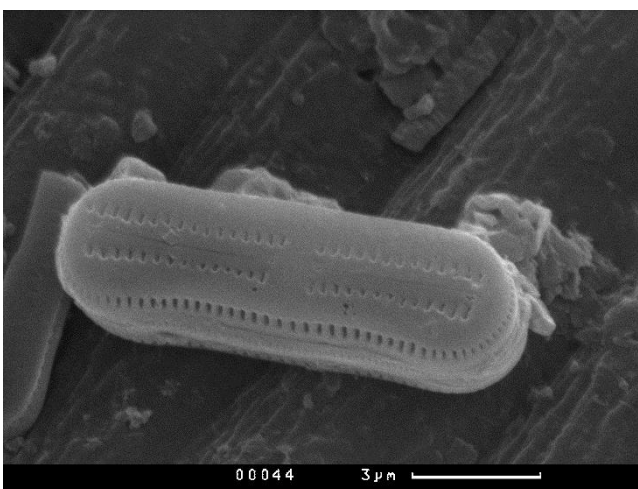


Рисунок 11 – *Humidophila contenta*  
(п. Ахштырская)



**Оценка биоразнообразия сообществ фототрофов исследованных полостей.** Проведен расчет индексов биоразнообразия Шеннона и Симпсона для сообществ фототрофов исследованных полостей (рис. 12). Наибольшее видовое разнообразие (индекс Шеннона – 4,13; индекс Симпсона – 0,02) отмечено в п. Голова Отапа, где максимальное количество биотопов различной степени обводненности ( $r=0.56$ ). Видовое разнообразие уменьшается и повышается значимость доминантов в пещерах гротового типа, за исключением грота Симона Кананита, что объясняется большим количеством биотопов в данной полости. Наименьшее видовое разнообразие отмечено в кельях Старого Орхея (индекс Шеннона – 2,21; индекс Симпсона – 0,09), что связано с низкой влажностью субстратов (45-65%).

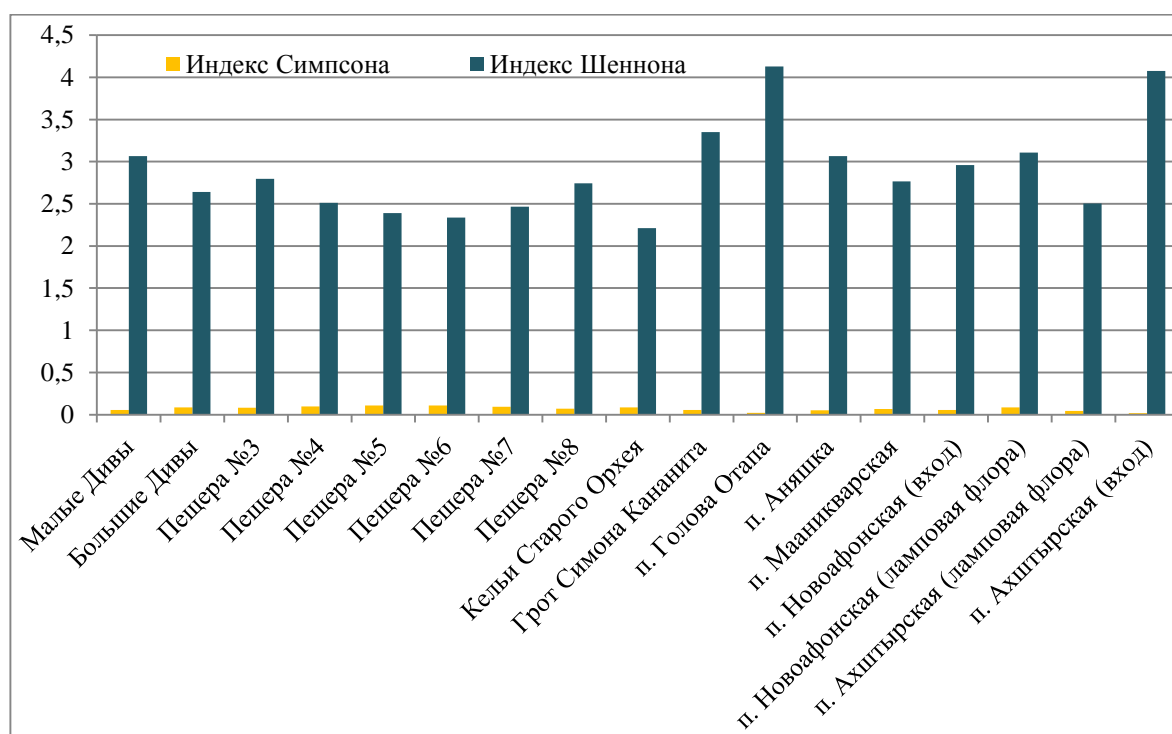


Рисунок 12 – Индексы биоразнообразия сообществ исследованных подземных полостей

Проведен корреляционный анализ зависимости видового разнообразия от температуры, влажности, концентрации  $\text{CO}_2$  пещер. Отмечена низкая корреляция между биоразнообразием фототрофов пещер и содержанием  $\text{CO}_2$  ( $r=0,019$ ), температурой воздуха ( $r=0,018$ ), выявлена слабая положительная корреляция между влажностью воздуха и биоразнообразием ( $r=0,6$ ). В литературе обсуждается влияние факторов различной природы на развитие фототрофных сообществ (Mules et al., 2008; Martinez, Asencio, 2010; Borderie et al., 2014; Lamprinou et al., 2014). Отмечено, что наибольшее влияние на колонизацию субстратов фототрофами оказывают освещенность, температура и наличие водных потоков (Виноградова и

др., 1998; Mulec et al., 2008; Martinez, Asencio, 2010). Размер, ориентация и морфология входа, свойства субстратов, циркуляция воздуха, также определяют формирование сообществ (Vinogradova et al., 2004; Martinez, Asencio, 2010; Czerwik-Marcinkowska, 2013). Следует отметить, что авторы рассматривали влияние экологических факторов на видовой состав сообществ, но не на биоразнообразии в целом.

#### ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СООБЩЕСТВ ОБРАСТАНИЙ ФОТОТРОФОВ ПОДЗЕМНЫХ ПОЛОСТЕЙ

**Пещеры гротового типа.** В таксономической структуре подземных полостей, заложенных в известняках, преобладали виды отдела Cyanobacteria. В некоторых меловых пещерах выявлено доминирование видов Chlorophyta (рис. 13). Общими для всех полостей были *Ch. vulgaris* и *Chr. minutus*.

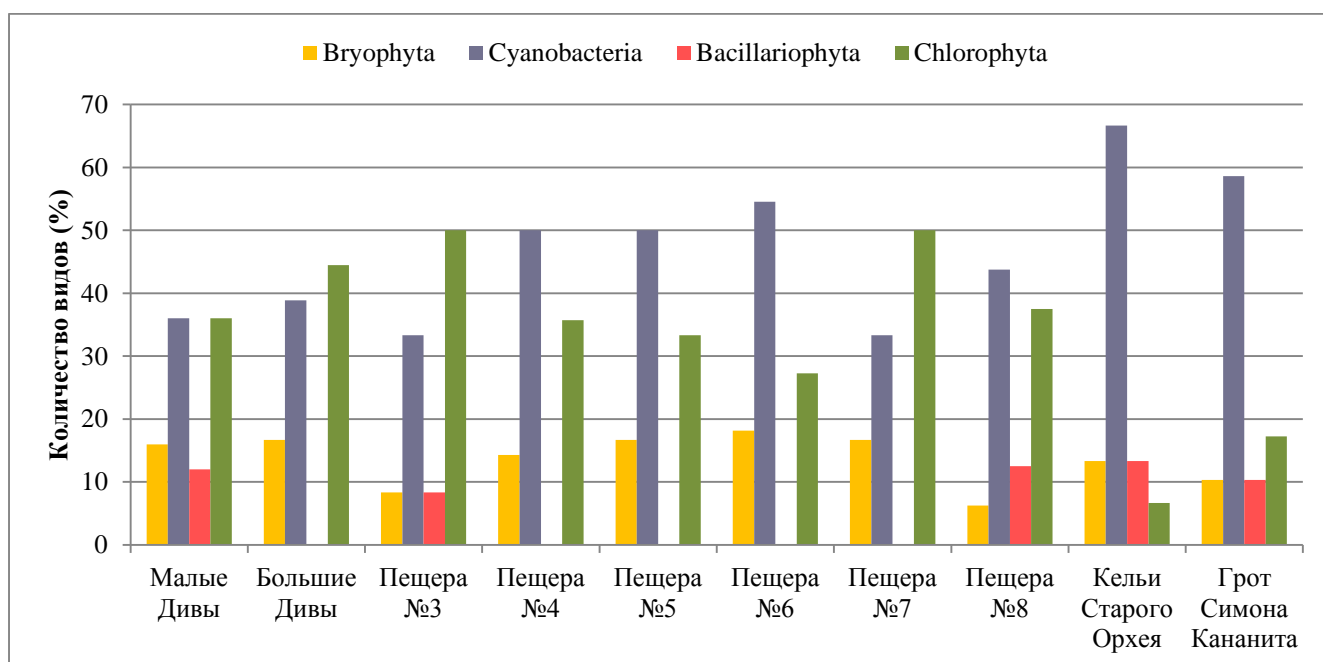
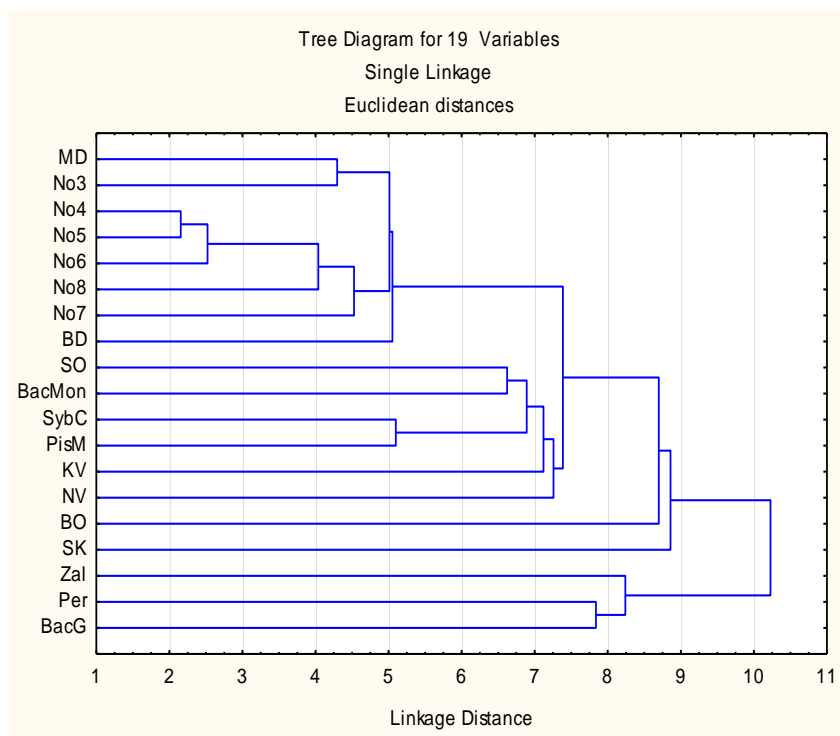


Рисунок 13 – Сравнение таксономической структуры пещер гротового типа

На основе встречаемости видов проведен кластерный анализ сообществ фототрофов из пещер гротового типа настоящего исследования и сходных по морфологии пещер Европы (Vucsko', Rajczy, 1989; Виноградова и др., 2009; Sennato et al., 2012). В результате выявлено четыре основных кластера (рис. 14). В первый кластер вошли пещеры Воронежской области, во второй кластер – кельи Старого Ореха и кельи Бакотского монастыря. Третий кластер образовали пещеры Италии и Венгрии, а в четвертый кластер вошли гроты Украины и Абхазии. Эти результаты подтверждают зависимость биоразнообразия фототрофов от



географической локации полостей в случае пещер со сходной морфологией входной зоны.



MD-Малые Дивы (РФ), BD – Большие Дивы (РФ), SO – кельи Старого Ореха (Молдова), BacMon – Бакотский Монастырь (Украина), SybC – Sybil's Cave (Италия), PisM – Piscina Mirabilis (Италия), KV – Kis Vizes-barlang (Венгрия), NV – Nagy Vizes-barlang (Венгрия), BO – Beremendi-ordoglyuk (Венгрия), SK – грот Симона Кананита (Абхазия), Zal – грот Залучанский (Украина), Per – Товтра «Першак» (Украина), BacG – грот Бакотский (Украина)

Рисунок 14 – Кластерный анализ пещер гротового типа на основе состава сообществ фототрофов

**Пещеры-источники.** Для сравнения выбраны пещеры-источники Абхазии: Аняшка и Голова Отапа. Они различались по размерам и степени антропогенного воздействия. В таксономической структуре обеих полостей преобладали цианобактерии. Общими были виды *L. foveolara*, *L. tenuis*, *L. voronichiniana*, *Chroococcus minutus*. В бриофлоре обнаружены общие виды: *Fissidens bryoides*, *M. polymorpha*, *Phyllitis scolopendrium*. Единственным видом зеленых водорослей, выявленным в обеих полостях, был вид *Ch. vulgaris*. Необходимо отметить, что в водных потоках обеих пещер выявлен вид красной водоросли *H. rivularis*, который крайне редко встречается в пещерах. Представители отдела Ochrophyta обнаружены только в п. Голова Отапа.

В данных пещерах наличие водотока определило выделение трех зон: поток, интенсивно орошаемая зона вблизи потока, своды пещеры. С помощью индекса Жаккара выявлено сходство между видовым составом сообществ фототрофов, развивающихся непосредственно в потоке и в интенсивно орошаемой зоне п. Аняшка (индекс Жаккара  $I_{jc}=0,45$ ), что объясняется небольшими размерами полости и высоким расходом воды в паводок и межень, в результате чего происходит постоянное интенсивное увлажнение орошаемой зоны. Иная ситуация

наблюдалась в п. Голове Отапа, где сходство биоразнообразия сообществ фототрофов орошаемой зоны и зоны потока было низким ( $I_{jc}=0,16$ ).

**Сравнение сообществ фототрофов входной зоны и ламповой флоры.** Выявлено различие биоразнообразия сообществ ламповой флоры п. Новоафонская и сообществ фототрофов входной зоны (индекс Жаккра  $I_{jc}=0,14$ ) и сходство для сообществ ламповой флоры и сообществ фототрофов входной зоны п. Ахштырская ( $I_{jc}=0,96$ ). В случае п. Ахштырская отмечена тенденция наибольшего сходства видового состава и структуры сообществ с входной зоной у сообществ под лампами, которые располагаются дискретно и находятся в тупиковых более-менее замкнутых и менее проветриваемых гротообразных участках пещеры с временными водотоками (рис. 15). Отмечено влияние освещенности, температуры, относительной влажности, качества субстратов, наличия водных потоков на развитие ламповой флоры (Mulec et al., 2008; Martinez & Asencio, 2010; Lamprinou et al., 2014, Borderie et al., 2014). Обсуждаются варианты заноса пропагул и сукцессия сообществ ламповой флоры (Abdullin, 2014; Mazina, 2016). В настоящем исследовании впервые проведен анализ сходства сообществ из разных зон пещер в давно оборудованных пещерах. Аналогичное сравнение на начальном этапе развития ламповой флоры показало низкое сходство видового состава (Mazina & Kozlova, 2018).

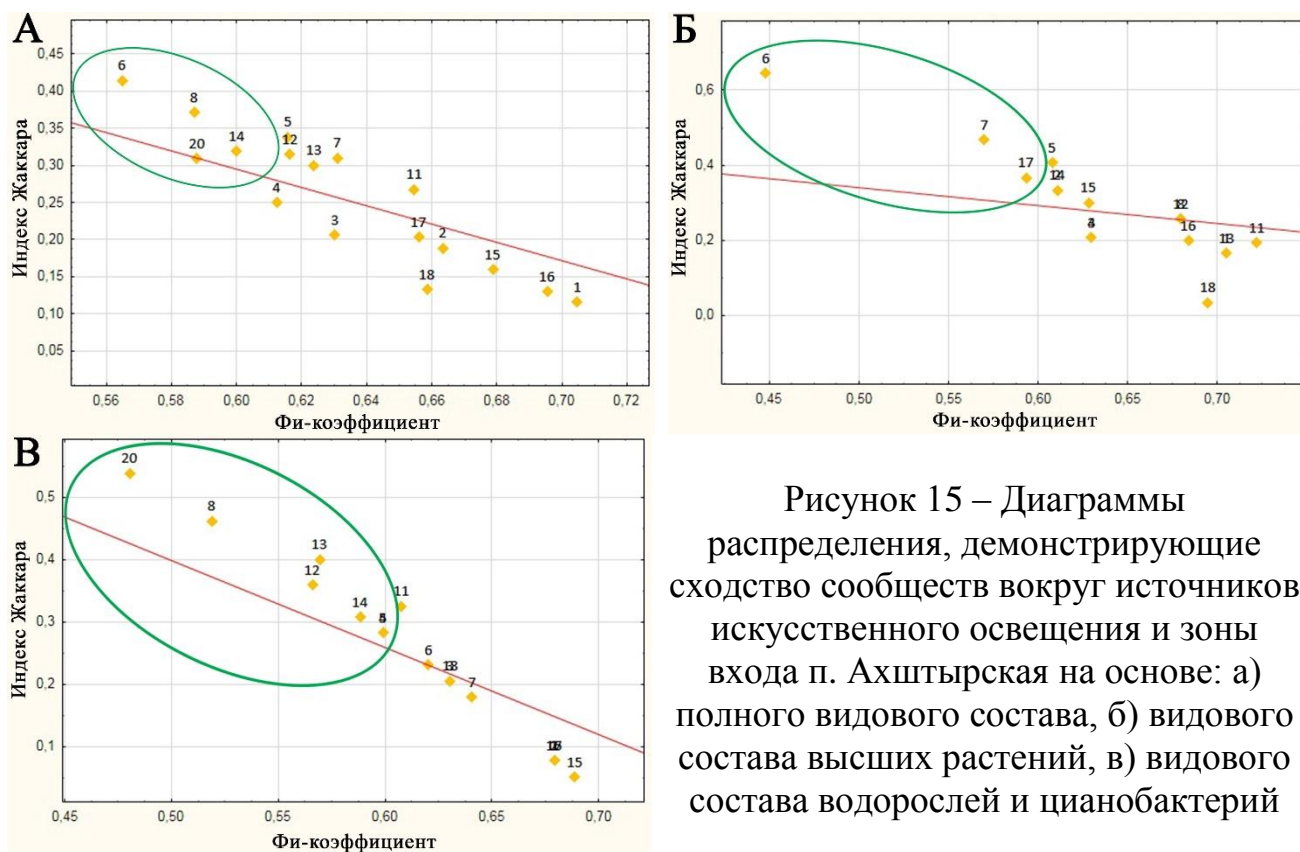


Рисунок 15 – Диаграммы распределения, демонстрирующие сходство сообществ вокруг источников искусственного освещения и зоны входа п. Ахштырская на основе: а) полного видового состава, б) видового состава высших растений, в) видового состава водорослей и цианобактерий

\*Примечание. Диаграммы рассеяния построены на основании индекса Жаккара и фи-коэффициента

## ГЛАВА 5. МЕЖВИДОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СООБЩЕСТВАХ ОБРАСТАНИЙ ФОТОТРОФОВ И ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ ДОМИНАНТОВ

**Межвидовые взаимодействия между водорослями / цианобактериями и микромицетами, выделенными из сообществ обрастаний пещер.** Выявлены пары штаммов, демонстрирующие кооперацию или антибиоз. Определена вероятность вариантов межвидовых взаимодействий между штаммами *Ch. vulgaris*, *L. foveolara*, *N. punctiforme* и микромицетами, выделенными из сообществ одной пещеры и сообществ пещер различных регионов. Проанализированы 273 пары «микромицеты-водоросли». Анализ вероятностей проявления различных вариантов взаимодействий выявил, что наибольшую способность к кооперации имеют виды, выделенные из одного сообщества, меньшую способность – из разных сообществ одной пещеры, наименьшую способность имеют виды, выделенные из пещер разных регионов (рис. 16 – 18). Данные о межвидовых взаимодействиях в сообществах пещер немногочисленны. Albertano, Urzi (1999) установили кооперацию между цианобактериями *Scytonema julianum* и актинобактериями рода *Streptomyces*. Отмечено, что кооперация между автотрофами и гетеротрофами обеспечивает успешную стратегию преодоления неблагоприятных условий, предоставляя возможности для удовлетворения метаболических потребностей (Paerl, 1992).

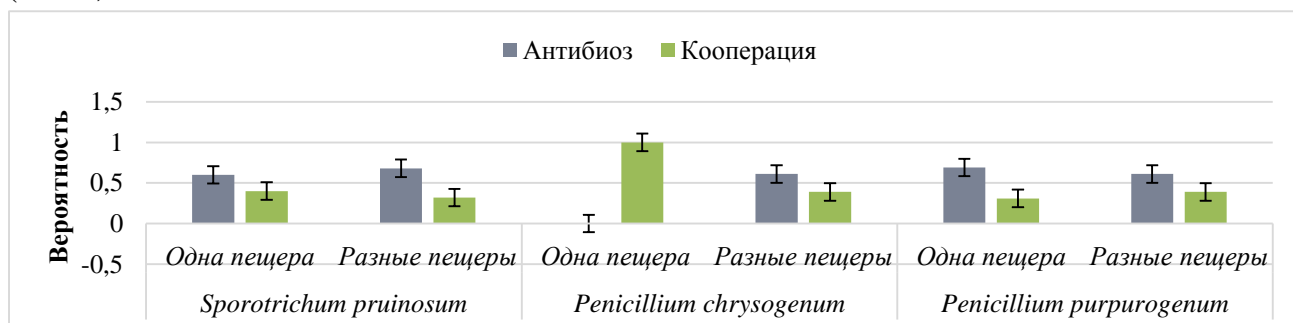


Рисунок 16 – Вероятность кооперации и антибиоза между штаммами *Ch. vulgaris* и микромицетами

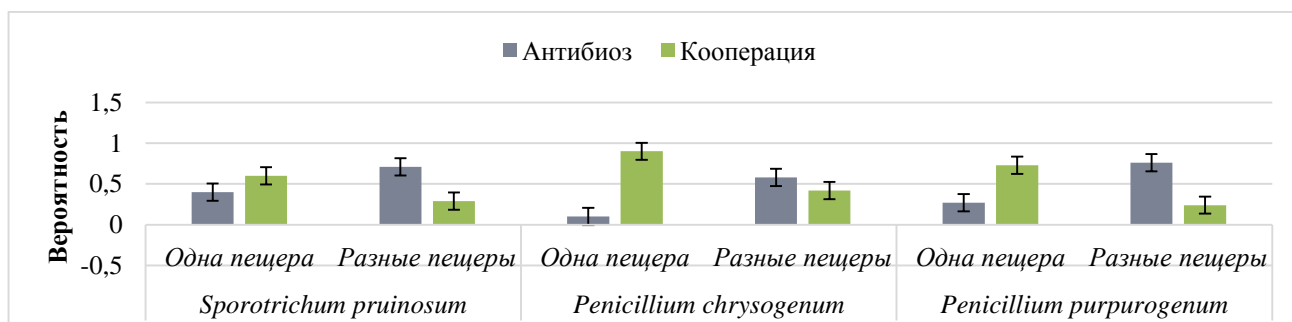


Рисунок 17 – Вероятность кооперации и антибиоза между штаммами *L. foveolara* и микромицетами

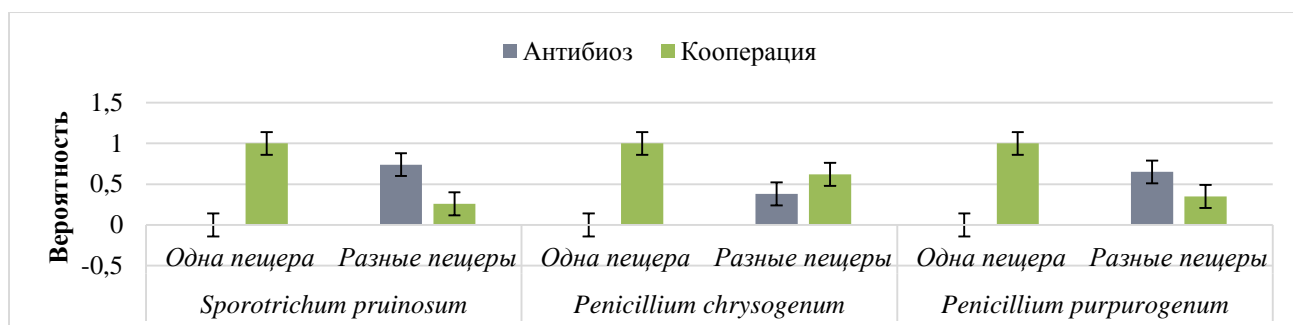


Рисунок 18 – Вероятность кооперации и антибиоза между штаммами *N. punctiforme* и микромицетами

**Температурные оптимумы и экстремумы фототрофных видов, выделенных из пещер.** Для штаммов *Ch. vulgaris* Вор.08.19, *Ch. vulgaris* Ах.04.19, *Ch. vulgaris* НА.08.19, *Ch. vulgaris* СК.04.19, *Ch. vulgaris* Гот.04.19, выделенных из подземных полостей с температурой 8-12 °С, температурные оптимумы находились в пределах от 8 до 24 °С, в то время как для штаммов *Ch. vulgaris* Вор.Р.08.19, *Ch. vulgaris* Мз.Р.08.19, *Ch. vulgaris* Пс.Р.08.19, *Ch. vulgaris* Хаб.Р.08.19, *Ch. vulgaris* Мч.Р.08.19, выделенных из поверхностных местообитания, но при аналогичной температуре 8-12 °С, температурные оптимумы находились в пределах 20-24 °С. Для штаммов *Ch. vulgaris* Ил.07.19, *Ch. vulgaris* Меж.07.19, *Ch. vulgaris* Кру.05.19, *Ch. vulgaris* Куй.09.19, *Ch. vulgaris* Кас.05.19, выделенных из пещер с низкими положительными температурами (4-5 °С), зона экстремума находились в пределах 4-6 °С (рис. 19).

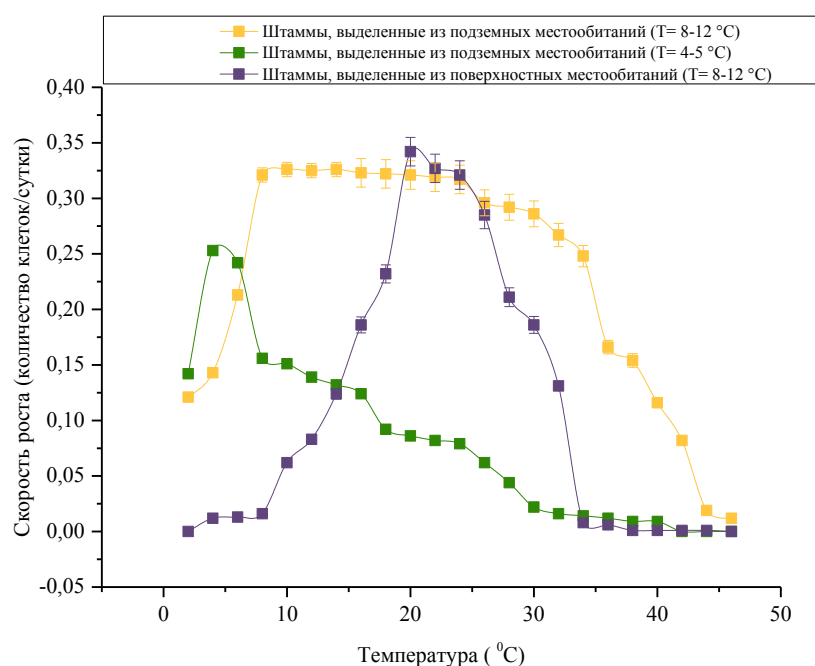


Рисунок 19 – Кривые толерантности для штаммов *Ch. vulgaris* по отношению к температурному фактору

**Влияние органических веществ на рост водорослей и цианобактерий.** В результате эксперимента выявлено, что глюкоза, мальтоза, глицерин, малат, ацетат, сахароза стимулируют рост штаммов *Ch. vulgaris*, *St. bacillaris*, *L. foveolaria*, *S. drilosiphon* (рис. 20 – 23). Наибольший рост отмечен на глюкозе и сахарозе. Возрастание удельной скорости роста цианобактерий и водорослей, по сравнению с культурами, экспонированными в темноте без добавления субстратов можно объяснить включением углеводов в метаболизм исследованных фототрофных организмов. Данные Абдуллина, Багмет (2016) показывают, что *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina et Punc и *Nitzschia palea* (Kütz.) W. Sm., способны ассимилировать глюкозу и могут быть отнесены к миксотрофным штаммам. Способность видов-доминантов переходить от автотрофного к гетеротрофному типу питания дает преимущества для выживания видов в условиях недостатка освещения. В олиготрофных условиях пещер источником органического вещества для цианобактерий и водорослей могут быть вещества, находящиеся в экзополимерной матрице биопленок, в которой могут накапливаться полисахариды, липополисахариды, гликопротеины, липиды, гликолипиды, жирные кислоты (Macedo et al., 2009; Keshari, Adhikary, 2013).

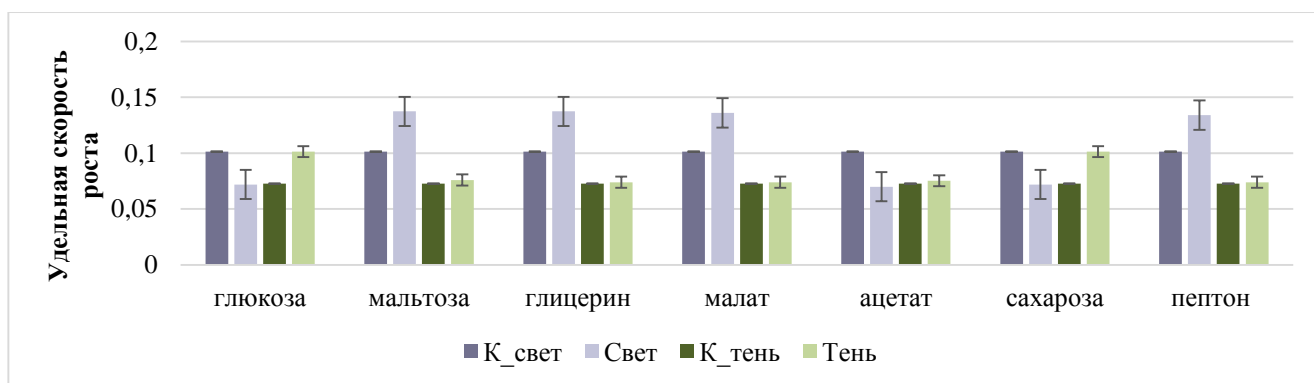


Рисунок 20 – Удельная скорость роста *Ch. vulgaris* на средах с добавлением различных органических соединений

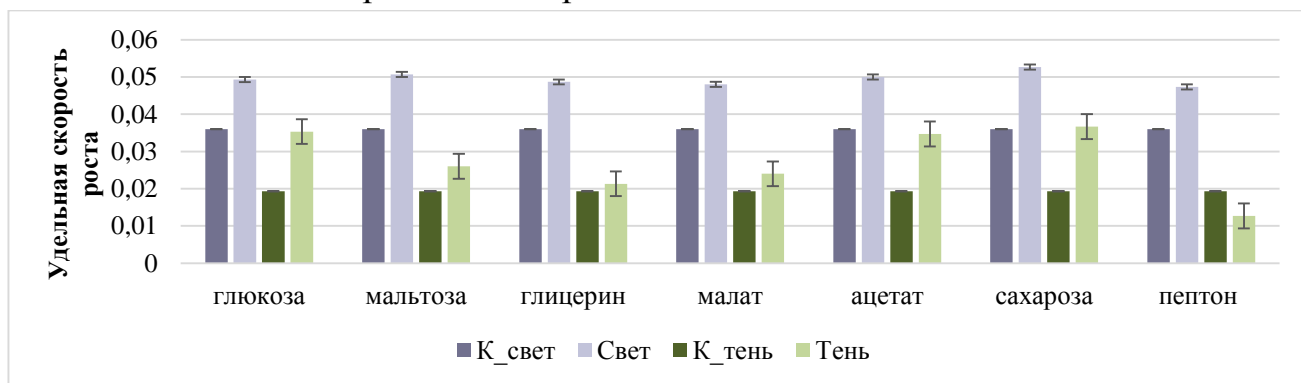


Рисунок 21 – Удельная скорость роста *St. bacillaris* на средах с добавлением различных органических соединений

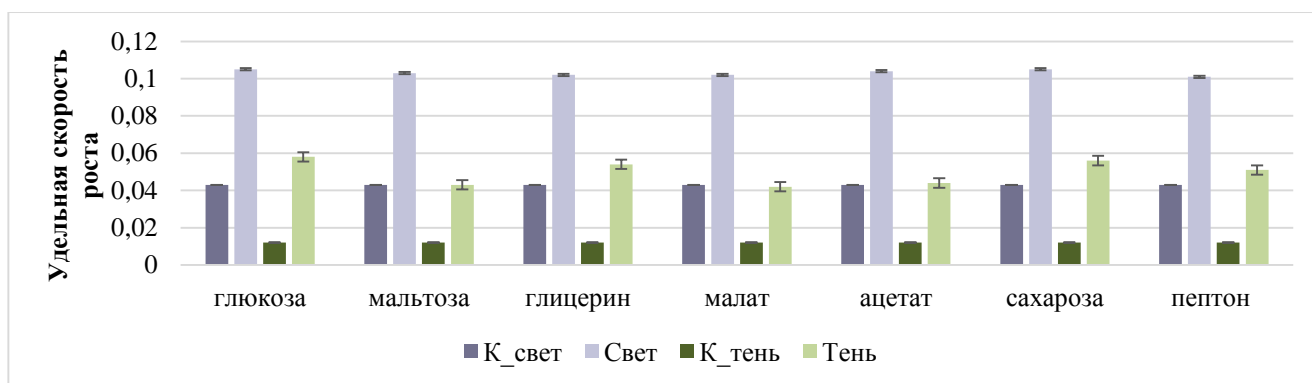


Рисунок 22 – Удельная скорость роста *L. foveolara* на средах с добавлением различных органических соединений

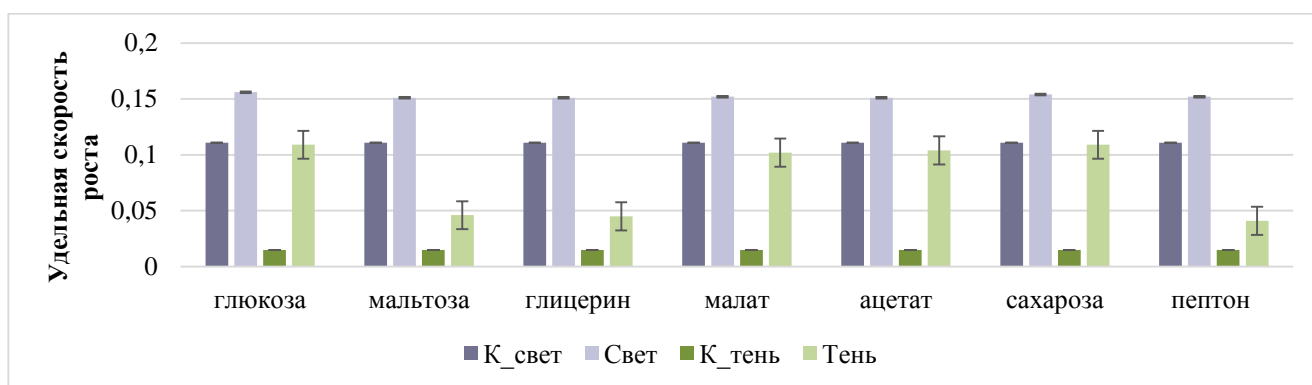


Рисунок 23 – Удельная скорость роста *S. drilosiphon* на средах с добавлением различных органических соединений

Примечание\* К – контроль

## ВЫВОДЫ

1. Выявлено 290 видов фототрофов в исследованных полостях: 33 – в пещерах Воронежской области, 29 – в гроте Симона Кананита, 15 – в кельях Старого Ореха, 77 – в пещере Голова Отапа, 24 – в пещере Аняшка, 21 – в естественном входе Новоафонской пещеры, 17 – в пещере Мааникварская, 74 – в пещере Ахштырская. Наибольшее видовое разнообразие установлено в сообществах входной зоны п. Голова Отапа (индекс Симпсона  $D=0,02$ , индекс Шеннона 4,13), где обнаружено максимальное количество биотопов. Корреляционный анализ показал слабую положительную корреляцию между влажностью воздуха и биоразнообразием фототрофов пещер ( $r=0,6$ ). Выявлен географический тренд биоразнообразия пещер гротового типа.

2. Сообщества, развивающиеся в условиях естественного и искусственного освещения в п. Ахштырская сходны (индекс Жаккара  $I_{jc}=0,96$ ). В Новоафонской пещере отмечено различие ( $I_{jc}=0,14$ ) между сообществами ламповой флоры и сообществами естественного входа. Это обусловлено наличием

нескольких пространственно-разобщенных путей заноса видов фототрофов в полость.

3. В парах штаммов *Leptolyngbya foveolaria* и *Penicillium chrysogenum*, *Sporotrichum pruinosum*, *Penicillium purpurogenum*; *Chlorella vulgaris* и *Penicillium chrysogenum*; *Nostoc punctiforme* и *Penicillium chrysogenum*, *Sporotrichum pruinosum*, *Penicillium purpurogenum* реализуется кооперация. Наибольшую способность к кооперации имеют виды, выделенные из одного сообщества, меньшую способность – виды из разных сообществ одной пещеры, а наименьшую способность – виды из пещер разных регионов.

4. Зона оптимума по фактору температуры штаммов зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*, выделенных из подземных местообитаний, шире, чем у штаммов из поверхностных местообитаний.

5. Для штаммов доминирующих видов *Chlorella vulgaris*, *Stichococcus bacillaris*, *Leptolyngbya foveolaria*, *Scytonema drilosiphon* при культивировании без освещения, присутствие глюкозы и сахарозы увеличивает скорость роста.

### РЕКОМЕНДАЦИИ

При разработке проектов оборудования пещер искусственным освещением необходимо использовать результаты анализа биоразнообразия сообществ входной зоны для выявления видов, имеющих большой потенциал к быстрой колонизации подземных местообитаний. В эксплуатируемых пещерах гротового типа можно рекомендовать снижение влажности биотопов как приоритетный способ предотвращения развития нежелательных фототрофных обрастаний.

На основании выявленного увеличения скорости роста при добавлении органических веществ для фототрофных видов, часть из которых широко используется в биотехнологии, можно рекомендовать миксотрофное культивирование с целью повышения выхода биомассы.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи в научных журналах, рекомендованных перечнем ВАК*

1. Мазина, С.Е. Сообщества освещенной зоны подземных келий скального монастыря «Успение Божьей Матери» заповедника Старый Орхей» / **А.В. Попкова** // Юг России, Т.12. – №4, 2017. – С. 138-146.
2. **Попкова, А.В.** Биоразнообразие фототрофных сообществ грота Симона Кананита / С.Е. Мазина // Экология урбанизированных территорий.– 2020.– №2.– С. 32-37.
3. Мазина, С.Е. Распределение фотосинтезирующих видов в пещерах гротового типа разных регионов / **А.В. Попкова** // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности.– 2020.– Т.28. – №3. – С. 275-284.

*Статьи в изданиях, включенных в мировые базы данных научного цитирования*

4. **Popkova, A.** Phototrophic communities of Ahshtyrskaya Cave in the condition of artificial light / S. Mazina, T. Lashenova // *Ecologica Montenegrina*. – 2019. – Vol. 23. – P. 8-19. (*Scopus*)
5. **Popkova, A.V.** Microbiota of hypogean habitats in Otap Head Cave / S.E. Mazina // *Environmental Research, Engineering and Management*. – 2019. – Vol. 75, No 3. – P. 71-83. (*Scopus*)
6. **Popkova, A.** An comparative analysis of airborne and terrestrial fungi in show caves Novoafonskaya (Caucasus) and Ali-Sadr (Iran) / E. Kozlova, S. Khazaei, S. Kochetkov, A. Fedorov, E.U. Benitsiafantoka, R.B. Soanjaras, S. Mazina // *Ecologica Montenegrina*. – 2020. – Vol. 37. – P. 11-18. (*Scopus*)
7. Mazina, S.E. Biodiversity and productivity of phototrophic communities from the illuminated cave zone with high content of CO<sub>2</sub> / **A.V. Popkova**, V.P. Zvolinski, A.K. Yuzbekov // *Cave and Karst Science*. – 2020. – Vol.47, №.3. – P. 131–137. (*Scopus*)

*Статьи в других научных изданиях:*

8. Мазина, С.Е. Фототрофы меловых культовых пещер Дивногорья и Костомарово / **А.В. Попкова**, Ш.Р. Абдуллин // *Успехи современной науки и образования*. — 2016. — Т. 1, № 8. — С. 151–157.
9. **Попкова, А.В.** Сравнительный анализ особенностей совместного культивирования цианобактерий пещер и микромицетов / В.Б. Багмет, Е.Ю. Егупова, Ш.Р. Абдуллин // *Успехи современной науки*. — 2017.- С. 22-25.
10. **Попкова, А.В.** Характеристика популяции зеленой водоросли *Chlorella Vulgaris* beijerinck в Новоафонской пещере (Абхазия) / Куманяев А.С., Мазина С.Е. // *Христианские пещерные комплексы Восточной Европы: Тезисы международной научно-практической конференции (24-27 апреля 2014, Дивногорье, Воронежская обл., Россия)*. – Воронеж: Издательство «Истоки». – 2014. –С. 35-36.
11. Мазина, С.Е. Цианобактерии в составе сообществ ламповой флоры карстовых пещер / О.В. Горяева, **А.В. Попкова** // *Автотрофные микроорганизмы: 5-й Всероссийский симпозиум с международным участием. Москва, МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический ф-т. 21-24 декабря 2015 г., Материалы / отв. ред. Нетрусов А.И., Колотилова Н.Н.* – М.: МАКС Пресс, 2015. – С. 56.
12. Мазина, С.Е. Адаптации водорослей и цианобактерий к среде карстовых известняковых пещер / **Попкова А.В.** // *Биоспелеологические исследования в России и сопредельных государствах, Москва, ИПЭЭ РАН, Ленинский проспект, 33, Россия, 1-2 декабря 2016.* – Ярославль: Филигрань, 2017. – С.74-80.



13. **Попкова, А.В.** Анализ взаимодействия *Mychonastes homosphaera* (Skuja) Kalina & Punc. и микромицетов из экосистем пещер / В.Б. Багмет, Е.Ю. Егупова, В.П. Зволинский // Actualscience. – 2016. –Т.2, № 12. –С.7-8.
14. **Попкова, А.В.** Сравнительный анализ особенностей совместного культивирования диатомей пещер и микромицетов / В.Б. Багмет, Е.Ю. Егупова, В.П. Зволинский // Результаты современных научных исследований и разработок: сборник статей Международной научно-практической конференции. – 2017. –С.30-33.
15. **Popkova, A.V.** Biotechnological potential of cave microbiota // Environmental Problems of the Third Millennium Proceeding of the International Youth Scientific Conference. – 2016. –Р. 28 – 31.
16. **Попкова, А.В.** Взаимодействие между фототрофами и микромицетами из пещерных сообществ обрастаний / С.Е. Мазина, В.Б. Багмет, Е.Ю. Егупова, В.П. Зволинский // Современная микология в России. Том 6. Материалы 4-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. – 2017. – С. 393-394.
17. Мазина, С.Е. Сообщества карстовых пещер как источник видов, пригодных для восстановления почвенного плодородия и рекультивации / **А.В. Попкова** // Сборник тезисов V Международной научной экологической конференции, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ, 2017. – С. 350-352.
18. **Попкова, А.В.** Биотехнологический потенциал сообществ микробиоты подземных карстовых полостей / С.Е. Мазина // Актуальные аспекты современной микробиологии, ФИЦ Биотехнологии РАН. Тезисы. – Москва: МАКС Пресс. – 2017. –С.89-91.
19. **Попкова, А.В.** Биоразнообразие и особенности видовой структуры сообществ обводненных освещенных участков известняковых карстовых полостей / С.Е. Мазина // Материалы IV (XII) Международной ботанической конференции молодых учёных, СПб.: БИН РАН. – 2018. – С.28-29.
20. **Popkova, A.V.** Microbiota of Otap Head Cave / S.E. Mazina, A.M. Stoinova // Abstract Book of 2ND International Conference "Smart Bio". – 2018. – Р. 203.
21. Мазина, С.Е. Микромицеты входных участков пещер Абхазии / **А.В. Попкова** // Сохраняя традиции – к новым достижениям: научная конференция, посвященная памяти ведущих ученых в области почвенной микробиологии И. Ю. Чернова, М. М. Умарова, О. Е. Марфениной, Б. А. Бызова: 25 декабря 2019 г.: Тезисы докладов. Москва: МАКС Пресс. – 2019. – С. 43.