

УДК 630.12

МИКОТРОФНОСТЬ ПОДРОСТА *PINUS SIBIRICA* DU TOUR В ПОДЗОНЕ ЮЖНОЙ ТАЙГИ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2012 О.Б. Вайшля, А.М. Данченко, А.Г. Дементьева

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Поступила в редакцию 12.05.2012

Изучена микотрофность подроста сосны сибирской в подзоне южной тайги Томской области. Приведены основные морфотипы эктомикориз, идентифицированы *Tomentella laterita*, *Suillus granulatus* и *Suillus sibiricus*. Дисперсионный анализ показателей «число микориз, индекс микоризации» и возраста подроста *Pinus sibirica* Du Tour выявил недостоверное влияние организованных факторов.

Ключевые слова: микотрофность, подрост *Pinus sibirica*, Западная Сибирь, морфотипы эктомикориз

Планетарную роль бореальных лесов Западной Сибири как важнейшего компонента биосферы Земли трудно переоценить. Работа проводилась в Томской области, где земли лесного фонда занимают 90,5% всей ее территории: это площадь в 17 млн. га, из которых 9,9 млн. га занято хвойными, 3,5 млн. га – кедровыми лесами [1]. В правобережной части реки Обь располагаются бруснично-лишайниковые, зеленомошно-лишайниковые хвойные леса, расположенные на песчаных отложениях долин, образованных в результате таяния льда в последнюю эпоху оледенения. Именно здесь зафиксировано наибольшее видовое разнообразие и большинство новых редких видов грибов-макромицетов для Томской области порядка *Agaricales*, *Boletales*, *Cantharellales*, *Hericiaceae*, *Phallales*, *Poryales*, *Russulales*, *Sclerodermataceae*, *Thelephorales*, многие из которых описаны как эктомикоризообразующие (ЕсМ) для хвойных [2, 3] и были введены в культуру [4]. Степень микотрофности основных лесообразующих пород является одним из важнейших показателей их благополучности, поскольку 8000 видов высших растений и 7000-10000 видов грибов планеты образуют эктомикоризу (ЕсМ), участвующую в круговороте биогенных элементов, оптимизации метаболизма растений, активизации минерального питания, индукции устойчивости к засухе, засолению, тяжелым металлам, патогенам [5, 6]. Согласно концепции «социального комплекса», эктомикоризный подземный Интернет интегрирует всех участников лесных экосистем, не только поставляя, но перераспределяя элементы питания между ними [7, 8]. Изучение морфологии, экологии и физиологии ЕсМ сосредоточено в основном в Европе, Северной Америке и Австралии [5, 8]. В России не только поставляя, но перераспределяя элементы питания между ними [7, 8].

Вайшля Ольга Борисовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии позвоночных и экологии. E-mail: planta@mail.tomsknet.ru

Данченко Анатолий Матвеевич, доктор биологических наук, заведующий кафедрой лесного хозяйства и ландшафтного строительства. E-mail: mtd2005@sibmail.com

Дементьева Анфиса Геннадьевна, студентка

Изучение морфологии, экологии и физиологии ЕсМ сосредоточено в основном в Европе, Северной Америке и Австралии [5, 8]. В России различными аспектами ЕсМ занимались многие исследователи: Возняковская Ю.М., Худяков Я.П., Шубин В.И., Чумак Н.Ф., Ахромейко А.И., Лобанов Н.В., Гельцер Ф.Ю., Ванин С.И., Зерова М.Я., Селиванов И.А., Еропкин К.И., Шемаханова Н.М., Красовская И.В., Частухин В.Я., Катенин В.Е., Салляев Р.К., Иванова Р.Н., Коротков Г.П., Семенова Л.А., Мишустин Е.Н., Пушкинская О.И., Каратыгин И.В. и другие. В настоящее время ЕсМ изучают Шубин В.И. – в Карелии, Коваленко А.Е., Иванов Д.М. – в Санкт-Петербурге, Воронина Е.Ю. – в Москве, Творожникова Т.А. – в Сыктывкаре, Веселкин Д.В. – в Екатеринбурге, Шкараба Е.М. и Бойко Т.А. – в Перми, Фаизова Л.И. – в Башкартостане. Насколько нам известно, за последние 50 лет на территории Западной Сибири различные виды ЕсМ хвойных изучает Д.В. Веселкин [9], а также эстонские ученые – но ЕсМ, образуемые грибами только рода *Tomentella* [10]. На юге Красноярского края, но эндомикоризу деревьев изучала Л.Д. Утемова [11]; на юге средней Сибири Н.Г. Майнагашева Н.Г. и Горбунова И.А. исследовали не сами микоризы, а грибы-базидиомицеты, образующие эктомикоризу [12]; на территории Западных Саян разнообразие эктомикоризообразующих грибов – макромицетов изучала О.Е.Крюкова [13], в Томской области – Н.Н. Агафонова [2]. Таким образом, микотрофность не только сосны сибирской, но и других хвойных, не только Томской области, но и всей Сибири, остается совершенно неизученным вопросом.

Данное исследование интересно также для активно развивающейся в настоящее время науки симбиологии, основы которой были изложены в докладе Антона де Бари в 1879 г. [14]. Тогда автор еще не знал ни о микоризе, ни о клубеньковых и РГРР-бактериях, ни о биоконтроле патогенов и явлении фунгиостазиса, но именно Антон де Бари первым сформулировал фундаментальное значение симбиотических и биоценологических отношений организмов в экосистемах. Спустя 6 лет, после описания Франком в 1885 г. практически всех типов ЕсМ [3, 15], интерес к этому интереснейшему

феномену симбиоза между грибами-базидиомицетами (90% ЕсМ), и низшими аско- и зигомицетами (10% ЕсМ) и деревьями в лесных экосистемах не угасает. Недавно показано, что ЕсМ меняют структуру микробиоты почвы [16, 17].

Известно, что ЕсМ – это малоспецифичный симбиоз, однако род *Pinus* является в этом смысле очень гетерогенным, поскольку разные виды макромицетов способны избирательно образовывать эктомикоризу только с двух-, только с трех- и только с пятигольчатыми соснами. Некоторые грибы, например, рода *Laccaria*, *Suillus* образуют эктомикоризы на сеянцах хвойных, грибы из родов *Russula*, *Boletus* микоризуют корни хвойных более старшего возраста. В природных условиях визуально весьма затруднительно выяснить, какие именно виды грибов являются ЕсМ-образующими для той или иной древесной породы. Мицелии разных видов ЕсМ-грибов могут хорошо развиваться под землей и перекрываться, но при этом мицелий одного ЕсМ-вида с помощью вторичных метаболитов может подавлять плодоношение других видов. Даже часто посещая определенное место в лесу, не всегда можно застать момент плодоношения определенного вида гриба. Кроме того, известно, что около 50% плодовых тел в лесных ценозах представлено таким массовым родом, как *Cortinarius*, однако только 5% мицелия этих грибов обнаруживается в составе ЕсМ. И наоборот, грибы рода *Tomentella* имеют крошечные плодовые тела, однако в 70% эктомикориз грибной компонент представлен мицелием именно этого рода.

Наиболее доступным способом изучения микотрофности является исследование макро- и микропризнаков микоризных окончаний [3, 7, 10]. Сбор сеянцев и подроста сосны сибирской проводили в лесопарковой зоне Академгородка г. Томска, на участке Тимирязевской лесной дачи в 15 км от Томска и в Калтайском лесничестве – ключевом участке оптимального произрастания кедровых насаждений. Согласно лесорастительному районированию Западной Сибири, эта территория расположена в зоне южной тайги и относится к Томско-Шегарскому району.

Для получения объективных данных по степени микотрофности *Pinus sibirica* (сосны сибирской, кедра) необходимо выкопать корневую систему образца без обрывов, что возможно только для одно- двухлетних сеянцев, найти которые в достаточном для статистической обработки количестве в разных точках изучаемого леса весьма затруднительно. Поэтому отбирали не менее 40-50 образцов подроста, или многолетних сеянцев кедра: классификация фаз онтогенеза по С.А. Николаевой [19], примерно одинаковой высоты, 10-15 см в высоту и фиксировали в 70% этаноле. Позже определяли возраст при помощи методики ретроспективного анализа [20]. В течение года побегов кедра закладываются метамерно, то есть раз в год на побеге образуются три зоны: 1) стерильных катафиллов, 2) брахибластов и 3) ауксибластов. Соответственно, можно узнать возраст подроста, подсчитав количество метамеров, отсчитывая первый год

от зоны гипокотилия. Возраст подроста примерно одинаковой высоты, в зависимости от места сбора, колебался от 3 до 17 лет.

Определяли длину хвои, побега и главного корня; количество поглощающих корней; морфотип, число микориз и микоризованных корешков; индекс микоризации – отношение количества корешков с эктомикоризами к общему количеству поглощающих корней. Микроморфологические признаки изучали на срезах микориз: толщину грибного чехла, периметр и диаметр микоризы, площадь поперечного сечения корня и площадь микоризного чехла. При микроскопировании срезов микориз использовали микротом замораживающий «МЗ-2», окрашивание 1% водным раствором сафранина, микроскоп «Zeiss Axiostar plus» с видеокamerой марки «LCL-217 HS Digital» и программу для измерения показателей срезов «Siams Mesoplant» (США). Поскольку ростовые параметры подроста и микроморфологические признаки микориз оказались очень полиморфными и неинформативными для оценки микотрофности, в статье мы их не приводим. Важным было ответить на вопрос о том, как методически правильно следует отбирать материал для оценки степени микотрофности подроста по показателям «Число эктомикориз» и «Индекс микоризации» в различных биотопах лесных экосистем. Для анализа этих признаков микотрофности подроста был использован однофакторный дисперсионный анализ и корреляция между возрастом подроста и числом микориз и индексом микоризации. Это позволило определить взаимосвязь возраста сеянцев и этих признаков. Дополнительно мы получили данные по доле влияния организованных и случайных факторов и достоверность их влияния. В большинстве случаев влияние организованных факторов было недостоверным.

Для разграничения степени влияния организованных и случайных факторов на уровень общей (фенотипической) изменчивости признаков на экспериментальных участках леса применяли дисперсионный анализ, результаты представлены в таблице 1, где: $F_{05} - F_{01} - F_{001}$ – стандартное значение критерия Фишера на 5, 1 и 0,1%-ом уровнях; $F_{факт}$ – отношение основного показателя к его ошибке; S_x – влияние организованных факторов, то есть возраста подроста на показатели микотрофности; S_z – случайное влияние неучитываемых факторов; S_y – общее влияние ($S_x + S_z$); η – сила влияния изучаемого фактора в % от общего влияния всей суммы факторов. Одной чертой выделены цифры с достоверностью различий на 5% уровне значимости, двумя – на 1% уровне значимости.

Проведенный анализ показал, что сила влияния изучаемых признаков от возраста подроста очень низкая (0,1-0,4) и только в Калтайском лесхозе, где условия для роста кедра оптимальны, как по числу эктомикориз, так и по индексу микоризации, на 1%-ном уровне были обнаружены достоверные различия, как и в лесопарковой зоне Академгородка, но на 5% уровне по индексу микоризации. Связь между возрастом подроста и числом

эктомикориз оказалась очень низкой ($r_{факт.} = 0,2-0,3 < r_{0,5}$) и не достоверной. Таким образом, для анализа микотрофности кедров по показателям «число

эктомикориз» и «индекс микоризации» можно использовать подрост от 3 до 17 лет.

Таблица 1. Дисперсионный анализ показателей микотрофности и возраста подростка *Pinus sibirica* Du Tour

Признак	Источник варьирования	Дисперсия	Число степеней свободы	Вариансы	Сила влияния η	Критерий Фишера	
						факт.	табл. $F_{05} - F_{01} - F_{001}$
Число эктомикориз на 1 см длины поглощающих корней	Лесопарковая зона в Академгородке						
	C_x	15,10	3	5,03	0,1	1,14	$F_{st}=\{2,8-4,3-6,6\}$
	C_z	177,08	40	4,4			
	C_y	198,18	43	4,47			
	Тимирязевская лесная дача						
	C_x	12,34	3	4,11	0,1	0,70	$F_{st}=\{2,9-4,5-7,0\}$
	C_z	176,13	30	5,87			
	C_y	188,47	33	6,28			
	Калтайский лесхоз						
	C_x	28,27	3	9,42	0,4	8,41	$F_{st}=\{2,9-4,5-7,0\}$
	C_z	34,70	31	1,12			
	C_y	62,97	34	1,85			
Индекс микоризации	Лесопарковая зона в Академгородке						
	C_x	1,09	3	0,36	0,2	3,0	$F_{st}=\{2,8-4,3-6,6\}$
	C_z	4,8	40	0,12			
	C_y	5,89	43	0,13			
	Тимирязевская лесная дача						
	C_x	0,53	3	0,18	0,1	1,13	$F_{st}=\{2,9-4,5-7,0\}$
	C_z	4,65	30	0,16			
	C_y	5,18	33	0,01			
	Калтайский лесхоз						
	C_x	0,77	3	0,26	0,4	6,5	$F_{st}=\{2,9-4,5-7,0\}$
	C_z	1,28	31	0,04			
	C_y	2,05	34	0,07			

У хвойных описано несколько морфотипов ЕСМ [7, 18]. Основные встреченные нами морфотипы ЕСМ сосны сибирской приведены на рис. 1, их описывали с помощью программы DEEMY, (<http://deemy.de>). Идентификацию вида гриба в том или ином морфотипе проводили либо по Атласу эктомикориз Р. Агерера [18], либо при консультировании специалистами INRA (Франция), либо с помощью ДНК-анализа. Выделение и очистку ДНК проводили, используя наборы «Quiagen» (Германия), ПЦР и секвенирование, по Von Clapp [21]. Для амплификации области ITS1-5.8S-ITS2 рибосомальной ДНК использовали общий для грибов праймер ITS1F (5'CTTGGTCAATTA GAGGAAGTAA 3'), специфичный для базидиомицетов праймер ITS4B (5'TCCTCCG STTATTGATATGC3') и специфичный для грибов рода *Tomentella* праймер LR3-tom (5'TACCGTAGAACCGTCTCC3').

Полученные последовательности сравнивали с сиквенсами базы данных UNITE в программе BLAST. Пока удалось определить грибной компонент только для четырех морфотипов: № 96 – *Tomentella laterita*, № 93 – *Suillus granulatus*, № 67 – *Suillus sibiricus* и № 86 – *Cortinarius sp.* Часто встречаются склероции низшего эндогонного

гриба *Senococcum geophilum*, который называют «черная микориза». Как правило, при неблагоприятных условиях произрастания подростка этот гриб быстро поселяется и также быстро уходит с корней, освобождая место для эктомикориз, образуемых грибами-макромицетами. Подобная работа планируется и для северных районов Томской области, где нет интенсивных вырубок леса и сохранилась заповедная черневая тайга.

Работа выполнена в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.». Госконтракт П 706.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Данченко, А.М. Кедровые леса Западной Сибири / А.М. Данченко, И.А. Бех. – Томск: Томский государственный университет, 2010. 424 с.
2. Агафонова, Н.Н. Новые для Томской области виды макромицетов / Н.Н. Агафонова, Н.П. Куртафьева, С.И. Гаишкова // Хвойные бореальной зоны. 2009. № 1. С. 146-150.
3. Roman, M. A revision of the descriptions of ectomycorrhizas published since 1961 / M. Roman, V. Claveria, M. Miguel // Mycology research. The British Mycological Society. UK, 2005. V. 109. N 10. P. 1063-1104.
4. Вайшля, О.Б. Культивирование in vitro, идентификация и биохимический состав некоторых видов

Номобасидиомусетиде, образующих эктомикоризу с хвойными / О.Б. Вайшля, А.А. Ведерникова // Хвойные бореальной зоны. 2009. № 1. С. 58-61.

5. Smith, S.B. Mycorrhizal symbiosis, Ed. 3rd / S.B. Smith, D.J. Read. – Academic Press, London, 2008. 514 p.

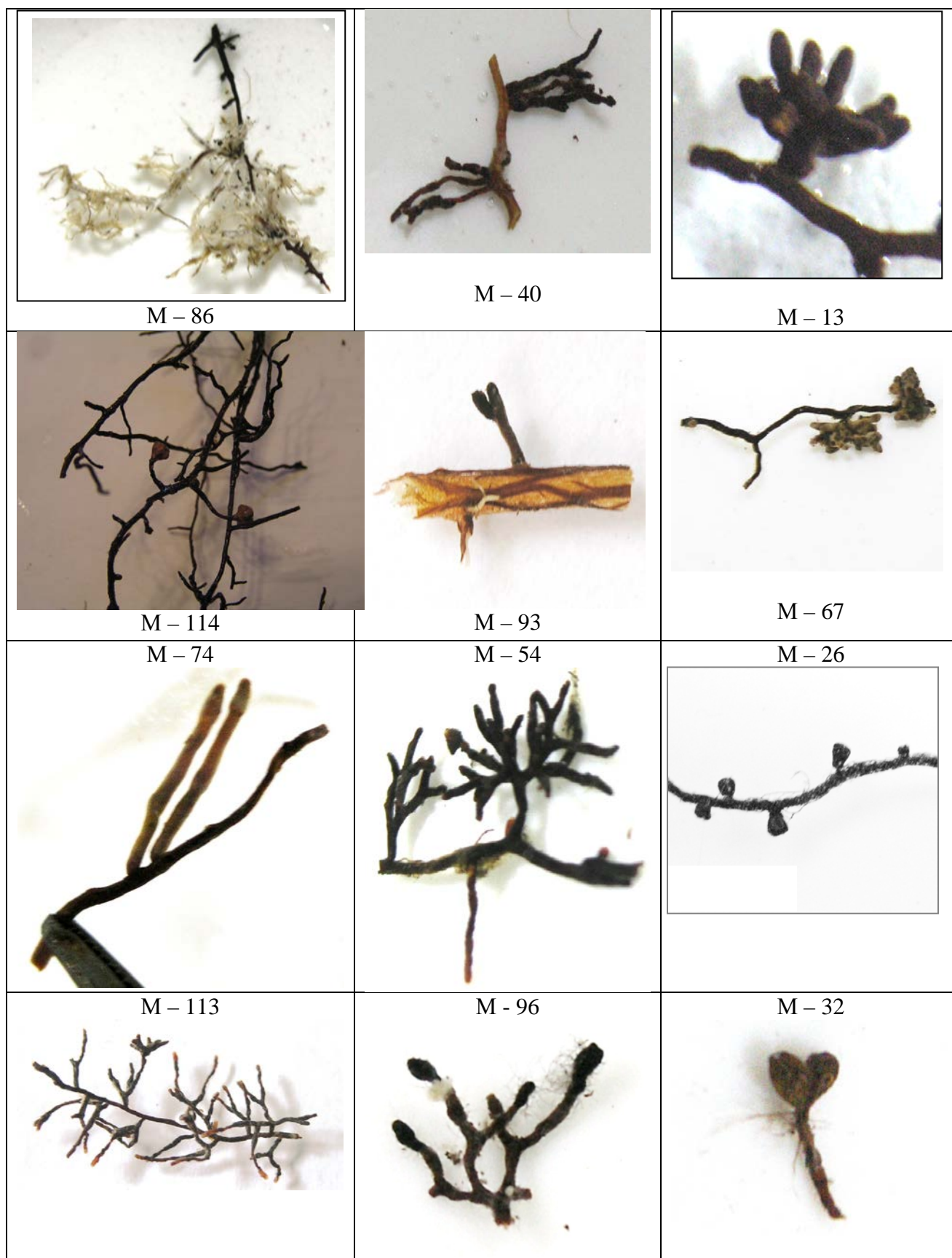


Рис. 1. Часто встречающиеся морфотипы (М) *Pinus sibirica* Du Tour

6. Данченко, А.М. Кедровые леса Западной Сибири / А.М. Данченко, И.А. Бех. – Томск: Томский государственный университет, 2010. 424 с.
7. Агафонова, Н.Н. Новые для Томской области виды макромицетов / Н.Н. Агафонова, Н.П. Кутафьева, С.И. Гашков // Хвойные бореальной зоны. 2009. № 1. С. 146-150.
8. Roman, M. A revision of the descriptions of ectomycorrhizas published since 1961 / M. Roman, V. Claveria, M. Miguel // Mycology research. The British Mycological Society. UK, 2005. V. 109. N 10. P. 1063-1104.
9. Вайшля, О.Б. Культивирование in vitro, идентификация и биохимический состав некоторых видов Homobasidiomycetidae, образующих эктомикоризу с хвойными / О.Б. Вайшля, А.А. Ведерникова // Хвойные бореальной зоны. 2009. № 1. С. 58-61.
10. Smith, S.B. Mycorrhizal symbiosis, Ed. 3rd / S.B. Smith, D.J. Read. – Academic Press, London, 2008. 514 p.
11. Finlay, R.D. Mycorrhizal symbiosis: myths, misconceptions, new perspectives and future research priorities // Mycologist. 2005. Vol. 19. N 3. P. 90-95.
12. Courty, P.-E. The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem process: New perspectives and emerging concepts / P.-E. Courty, M. Buee et al. / Soil Biology & Biochemistry. 2010. V. 42. P. 679-698.
13. Rineau, F. Does forest liming impact the enzymatic profiles of ectomycorrhizal communities through specialized fungal symbionts? / F. Rineau, J. Garbaye // Mycorrhiza. 2009. Vol. 19. P. 493-500.
14. Веселкин, Д.В. Реакция эктомикориз *Pinus sylvestris* L. на техногенное загрязнение различных типов // Сиб. экологич. журн. 2005. № 4. С. 753-761.
15. Koljalg, Ur. Tomentella (Basidiomycota) and related genera in Temperate Eurasia / Ur. Koljalg. – Oslo. Fugiflora. 1996. 213 p.
16. Утемова, Л.Д. Микотрофность растений в некоторых лесных ценозах юга Красноярского края // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. 1988. №3. С. 10-18.
17. Майнагашева, Н.В. История изучения макромицетов на юге средней Сибири / Н.В. Майнагашева, И.А. Горбунова // Современная микология в России. Тез. докл. II съезда микологов России. 2008. Том 2. С. 77-78.
18. Крючкова, О.Е. Материалы к изучению базидиомицетов темнохвойных лесов Западного Саяна (Сем. Cortinariaceae // Современная микология в России. Тез. докл. II съезда микологов России. 2008. Том 2. С. 33-34.
19. De Bary, A. Die Erscheinung Der Symbiose. Strasburg, 1879 / пер. с нем. Л.П. Курпяновой. – СПб: ИПК БИОНТ, 2009. 25 с.
20. Frank, B. On the nutritional dependence of certain trees on the root symbiosis with belowground fungi (an English transformation of A.V. Frank's classic paper of 1885) // Mycorrhiza. 2005. № 15. P. 267-275.
21. Воронина, Е.Ю. Влияние эктомикориз ели и березы на структуру комплексов почвообитающих микроорганизмов: автореф. дис.... канд. биол. наук / Е.Ю. Воронина. – М., 2008. 28 с.
22. Calvaruso, C. Influence of Forest Trees on the Distribution of Mineral Weathering-Associated Bacterial Communities of the *Scleroderma citrinum* Mycorrhizosphere / C. Calvaruso, M-P. Turpault et al. / Applied and Environmental Microbiology. 2010. Vol.76. №14. P. 4780-4787.
23. Agerer, R. (ed.). Colour Atlas of Ectomycorrhizae. – Einhorn-Verlag, Schwabisch Gmund, 1987-2008. V. I-VI.
24. Николаева, С.А. Онтогенез кедра сибирского а условиях Кеть-Чулымского междуречья / С.А. Николаева, С.Н. Велисевич, Д.А. Савчук // Вестник Томского государственного университета. 2008. №3 (4). С. 24-34.
25. Воробьев, В.Н. Рост и пол кедра сибирского / В.Н. Воробьев, Н.А. Воробьева, С.Н. Горошкевич. – Новосибирск: Наука, 1989. 167 с.
26. Von, J.P. Clapp. Species diagnostics protocols. – Veroffentlich: Humana Press, 1996. 416 s.

MYCOTROPHY OF *PINUS SIBIRICA* DU TOUR YOUNG GROWTH IN SOUTH TAIGA SUBZONE OF TOMSK OBLAST

© 2012 O.B. Vayshlya, A.M. Danchenko, A.G. Dementyeva

National Research Tomsk State University

The mycotrophy of Siberian pines young growth in south taiga subzone of Tomsk oblast is studied. The main morphotypes of ectomycorrhiza are shown, *Tomentella laterita*, *Suillus granulatus* and *Suillus sibiricus* are identified. Disperse analysis of parameters «mycorrhiza number, mycorrhization index» and age of *Pinus sibirica* Du Tour young growth revealed doubtful influence of the organized factors.

Key words: mycotrophy, *Pinus sibirica* young growth, Western Siberia, ectomycorrhiza morphotypes

Olga Vayshlya, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Vertebrates Zoology and Ecology. E-mail: planta@mail.tomsknet.ru

Anatoliy Danchenko, Doctor of Biology, Head of the Department of Forestry and Landscape Building. E-mail: mtd2005@sibmail.com
Anfisa Dementyeva, Student