

**СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ МИКРОМИЦЕТОВ И ИХ
СИНЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С БАЗИДИАЛЬНЫМИ
ГРИБАМИ В ХОДЕ РАЗЛОЖЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ**

В.А. Терехова, Т.А. Семенова

*Институт почвоведения МГУ-РАН,
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН*

В лабораторном эксперименте изучены взаимодействия микромицетов с базидиальным мицелием по ходу трехлетней экспозиции модельных растительных субстратов в подстилке ненарушенных ельников Центрально-лесного государственного биосферного заповедника (ЦЛГБЗ, Нелидовский район, Тверская область). Лишь 40-60% микромицетов вступают в прямое антагонистическое взаимодействие с макромицетами. По соотношению физиологически активных и индифферентных к базидиальному мицелию штаммов выявлены различия в структуре микромицетов на остатках разных типов (древесине, коре, сфагнуме, листьях, хвое, подстилке, ветоши пушицы). Протестированы микромицеты, относящиеся к 49 видам. В конце срока наблюдений на неактивной фракции опада (лигнинсодержащих древесных остатках) доля микроскопических грибов, активно влияющих на мицелий базидиомицета, примерно в 4 раза меньше, чем на травянистых субстратах, составляющих активную фракцию опада. Обсуждаются механизмы опосредованной регуляции структуры и функций микромицетов путем накопления в среде соединений фенольной природы и изменения ферментативной активности базидиального мицелия.

Ключевые слова: микромицеты, базидиомицеты, структура комплексов, деструкция растительных остатков

Взаимная регуляция структуры основных компонентов микобиоты – один из ключевых механизмов, определяющих скорость минерализации растительных остатков в естественных биогеоценозах. Известно, что основным агентом деструкции целлюлозо- и лигнинсодержащих субстратов является мицелий высших базидиальных грибов, продуцирующий мощные комплексы окислительных экзоферментов. Агарикоидные макромицеты способны оказывать большое влияние на формирование микро- и микобиоты в окружающей среде, как это показано для почвенных ценозов [1]. С другой стороны почвенные микроскопические грибы могут регулировать развитие базидиальных грибов

[2,3,4]. Опубликованные результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о широком спектре продуцируемых микромицетами биологически активных соединений, которые могут контролировать биоконверсию растительных остатков [5]. Подходы к изучению механизма действия этих веществ и структурно-функциональных особенностей микобиоты на отдельных этапах процесса минерализации растительных субстратов разного качества в природных условиях методически представляют определенную сложность, поскольку следует сочетать изучение динамики разложения растительных остатков и мониторинг изменений в сообществе микро-и макромицетов.

В данной работе с помощью модельного эксперимента предпринята попытка вычленив из всего многообразия взаимоотношений взаимодействие между двумя компонентами микобиоты и проанализировать специфические реакции между колониями так называемых почвенных микромицетов и колониями базидиального макромицета.

Цель работы - выявление закономерных изменений в структуре сообществ микромицетов и их взаимоотношениях с высшими базидиомицетами по ходу разложения растительных остатков разных типов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Микромицеты выделяли с растительных субстратов на стационарных пробных площадках в биотопах типичных южно-таежных биогеоценозов Центрально-лесного государственного биосферного заповедника (ЦЛГБЗ, Тверская область). Растительные субстраты разных типов (кора, древесина, мох сфагнум, ветошь пушицы, листья, хвоя, подстилка) были заложены сотрудниками заповедника в лесные подстилки на пробных площадках ельников неморального и бореального типов. Образцы субстратов без измельчения помещали в пластиковые сетчатые мешочки размером 10x10 см с диаметром ячеек 1 мм. Натурный эксперимент продолжался 3 года. По ходу эксперимента мешочки (по 10 экземпляров каждого варианта) вынимались весной и осенью с интервалом в 6 месяцев. Колонии микромицетов получали стандартным методом посева водного экстракта растительных остатков на подкисленный (с целью подавления роста бактерий) агар Чапека [6]. В качестве

модельной тест-культуры базидиомицета использовали гриб *Pleurotus ostreatus Kuhn*. Агарикоидный макромицет вешенка устричная в естественных условиях является активным деструктором растительных остатков в древесном ярусе и лесной подстилке, одновременно разрушая лигнин и целлюлозные биополимеры. В работы использовали коллекционный штамм Н-5-3. В лаборатории агаровый диск (диаметром 0,8 см) с базидиальным мицелием в возрасте 7-10 суток помещали в центр чашки Петри с сусло-агаром, по периферии чашки Петри помещали инокулом микромицетов, выделенных с растительных субстратов. Чашки Петри инкубировали в термостате при температуре 24°C в течение 4-7 суток. Характер взаимодействия колоний описывали по трем градациям: в группу 1 объединены микромицеты, угнетающее развитие базидиального мицелия, в группу 2 – индифферентные, в группу 3 – микромицеты со стимулирующим эффектом (Рис.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

С растительных субстратов, экспонировавшихся в подстилке разных биогеоценозов в рамках трехлетнего комплексного эксперимента, было выделено всего 142 вида микроскопических грибов, относящихся к 40 родам. Количество видов в каждый конкретный момент исследования было невелико - индекс видового богатства составлял в среднем 5,77. При рассмотрении сообществ грибов на древесных субстратах и не древесных (включающих листья, хвою, подстилку, пушицу), больших различий обнаружено не было (табл.1). Различия же в степени разложения субстратов этих двух групп были очень существенны: подстилка и листья к концу срока экспозиции были разложены практически полностью, в значительной мере произошла минерализация ветоши пушицы и хвои, визуально малоизмененным был лишь сфагнум. Кора и кусочки древесины за истекший период наблюдений не претерпели столь сильных изменений, в некоторых образцах отмечена лишь мацерация целлюлозных волокон.

Типичными обитателями исследованных субстратов были виды родов *Penicillium*, *Thysanophora*, *Talaromyces*, *Paecilomyces*, *Oospora*, *Phialophora*, *Phoma*, *Septonema*, *Scopulariopsis*, *Rhizopus*. В тест-эксперименте с мицелием базидиомицета использована выборка колоний микромицетов, относящихся к 49 видам и обнаруживавших один из трех описанных выше типов воздействия. Среди них были грибы с выраженными амилолитическими (*Aureobasidium* spp.,

Mucor spp.) пектинолитическими (*Phoma spp.*) свойствами, типичные ксилотрофы (*Chloridium sp.*), сахаролитики (*Verticillium spp*) целлюлозолитики (*Trichoderma spp.*, *Penicillium spp.*), виды, сочетающие в себе свойства амилолитиков и ксилотрофов (*Acremonium spp.*). Среди тестируемых грибов было немало продуцентов антибиотиков и других биологически активных веществ [7]

Результаты показали, что в целом большая часть (62,4 %) микромицетов довольно активна по отношению к базидиальному мицелию (рис. 2а).

Активность, выражающаяся в угнетении его развития, была, в частности, характерна для *Acremonium butury*, *A. charticola*, *A. fusidioides*, *Aureobasidium pullulans*, *Monocillium dimorphosporum*, *Mortierella vinacea*, *Penicillium canescens*, *P. chrysogenum*, *P. crustosum*, *P. dierckxii*, *P. expansum*, *P. glabrum*, *P. griseofulvum*, *P. hirsutum*, *P. humuli*, *P. janczewskii*, *P. janthinellum*, *P. lividum*, *P. pinophilum*, *P. viridicatum*, *Phoma sp.*, *Trichoderma aureoviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. polysporum*, *T. virens* *T. viride*.

Значительная часть колоний микромицетов (24,25 %) оказалась индифферентной по отношению к развивающемуся мицелию базидиомицета, что выражалось в проникновении гиф одного гриба в колонию другого или обрастании мицелия одной колонии вокруг другой без видимых зон препятствия. Такую реакцию обычно обнаруживали *Chloridium viride*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. sphaerospermum*, *Mortierella ramanniana*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium brevicompactum*, *P. puberulum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. verrucosum*.

Некоторые микромицеты (14,2 %) оказывали специфическое стимулирующее воздействие на развитие мицелия вешенки, что приводило к формированию либо более пышного, чем в обычных условиях, воздушного мицелия, либо к образованию своеобразных мицелиальных «языков» и тяжей в той части колонии базидиомицета, которая обращена к колонии микромицета (рис.1). Чаще всего такой тип воздействия был характерен для некоторых грибов рода *Acremonium*, *Mucor plumbeus*, *Mycelia sterilia* (*Moniliaceae*), *Penicillium velutinum*, *P. rugulosum*, *P. purpurogenum*, *Gilmaniella humicola*, *Gliomastix murorum*, *Paecilomyces carneus*, *P. farinosus*.

Проведено сравнение структуры микромицетов, развивающихся на древесных субстратах (кора и ветви), и на субстратах условно, названных травянистыми (подстилка, листья, ветошь пушицы), т.е. не содержащих крупных фрагментов коры и древесины, и относительно быстро разлагающихся. В эту

группу субстратов не включали сфагнум, который был обильно заселен пропативными структурами микромицетов, но практически не подвергался минерализации.

По средним показателям за трехлетний период наблюдений в структуре микромицетных комплексов на исследованных разных субстратах заметны различия (рис.2, б и в). На травянистых остатках доля микромицетов, угнетающих развитие мицелия базидиомицета, была меньше, а доля стимулирующих грибов была почти в 4 раза больше по сравнению с таковой в комплексах, выделенных с древесных субстратов. На древесных же растительных остатках в ходе всего периода наблюдений доля микромицетов, угнетающих развитие базидиального мицелия, была велика - от 0,45 до 0,75, а доля микромицетов, стимулирующих развитие вешенки, не превышала значение 0,16.

Проведен анализ структуры микромицетных сообществ, развивающихся на растительных остатках в разных экологических условиях и динамики их взаимоотношений с базидиомицетами (рис. 3). По ходу ферментации легко гидролизующих субстратов, таких как листья, пушица, подстилка, изменения в структуре микромицетных комплексов по сравнению с динамикой структуры грибов на древесных остатках имели более определенный характер. Это выражалось в существенных отличиях в содержании микроскопических грибов - физиологически активных и индифферентных к мицелию тест-культуры базидиомицета на разных этапах разложения. Комплексы микромицетов на исходных (до экспозиции в ельниках) травянистых субстратах содержали 66,7 % грибов, угнетающих развитие базидиомицета, 25,2% - с нейтральной реакцией и около 8% грибов, оказывающих стимулирующее воздействие на тест-культуру. На ранних стадиях грибной сукцессии на травянистых растительных остатках доминировали амилолитические и пектинолитические грибы, многие из которых, как оказалось, были потенциально конкурентоспособны и подавляли развитие базидиальной тест-культуры. Позднее в группу лидеров деструкции включались грибы рода *Penicillium*, причем, среди них вначале получали преимущественное развитие виды, подавляющие развитие вешенки. На более поздних этапах сукцессии появлялись виды этого рода, которые не оказывали видимого воздействия на развитие базидиомицета. Последние стадии разложения характеризовались преимущественным развитием стерильного мицелия *Mycelia*

sterilia (*Moniliaceae*), который в ряде случаев несколько стимулировал развитие вешенки. К концу периода наблюдений, когда в основном травянистые субстраты были разложены, доля грибов, стимулирующих развитие базидиомицета, увеличилась в 2-3 раза (рис.3,б).

Условия экспозиции растительных субстратов в подстилках разных биогеоценозов (ельника бореального и ельника неморального) не оказывали существенного влияния на соотношение трех исследуемых групп грибов в микромицетных комплексах. Об этом свидетельствуют данные, характеризующие структуру микромицетов как на древесных, так и на травянистых субстратах, приведенные на рис.4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ельники бореального и неморального типов в ЦЛГБЗ характеризуются различающимися запасами подстилок. Для объяснения различий в темпах разложения растительного опада в разных биогеоценозах южной тайги выдвигаются разные гипотезы [8]. В одних определяющим фактором называется качество опада, в других гидротермические условия, в-третьих, структура биотической компоненты почвы. Очевидно, что все эти факторы находятся во взаимосвязи и, вероятно, количественные параметры этой связи на разных стадиях разложения меняются. По крайней мере, для почвенных профилей это неоднократно показывалось. [9, 10, 11, 12].

В зависимости от степени разложения опада в разных горизонтах лесной подстилки доминируют разные виды. Основу L- слоя составляют *Aurobasidium pullulans*, *Mucor*, *Cladosporium*, макромицеты *Marasmius*, *Collybia*. В F-слое, в котором наиболее активно идут процессы разложения целлюлозы и лигнина, доминирующий комплекс видов представлен как целлюлозолитиками *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Mycogone*, так и базидиальными грибами. Гумусированный слой Н заселен преимущественно базидиальными грибами. Функциональные механизмы, обеспечивающие на разных этапах минерализации растительных остатков поддержание таких объект-субстратных связей, как и факторы, влияющие на них, представляют особый интерес.

Две группы субстратов, в ходе разложения которых исследовались структура и динамика синэкологических взаимоотношений грибов, представляют собой разные как по объему, так и по качеству фракции растительных остатков,

поступающих на поверхность почв исследуемых фитоценозов. Листья, хвоя, остатки травянистых растений, наряду с почечной чешуей, семенами и соцветиями древесных растений, составляют активную (быстроразлагающуюся) фракцию опада и представляют его большую часть. Ветки и кора, относящиеся к неактивной части древесного опада, составляют обычно около 30 %.

Биополимерные комплексы использованных в нашей работе растительных субстратов различаются очень существенно. Это касается как относительного содержания полисахаридов (целлюлозы, гемицеллюлозы) и лигнина, так и элементного состава и структуры макромолекул лигнина у разных растений. В частности, лигнин травянистых растений содержит конифериловый и кумаровый спирты, для древесины лиственных пород более характерными являются конифериловый и синаповый спирты, тогда как для лигнина хвойных - конифериловый спирт.

Проведенное нами исследование подтверждает наличие сложного синэкологического взаимодействия между разными компонентами микобиоты в процессе разложения растительных субстратов.

Прежде всего, удалось экспериментально показать, что по воздействию на базидиальный мицелий выделенные группы микромицетов существенно различаются. Наиболее вероятной причиной подавления развития базидиомицета является прямое воздействие биологически активных соединений с антибиотическими свойствами, которые продуцируются микромицетами, объединенные нами в группу 1 (угнетающие) [7].

Другие виды, как например *Penicillium purpurogenum*, не только не подавляли рост базидиомицета, но даже оказывали на него стимулирующее воздействие. Этот факт хорошо согласуется с опубликованными данными относительно отсутствия антагонистических взаимодействий между колониями агарикоидного базидиомицета - подстилочного сапротрофа *Lepista nuda* и колониями микромицета *P. purpurogenum*, который выделялся из зоны активного роста и плодоношения *L. nuda* и не испытывал угнетающего воздействия метаболитов высшего гриба при экспериментальной проверке [13].

Регуляция взаимодействия между базидиальным мицелием и группой микромицетов, условно названными нами стимулирующими (группа 3), представляется опосредованной сложным влиянием микромицетов на процессы метаболизма базидиомицета. Подобное явление довольно подробно

исследовалось при изучении роли микромицетов почвенного покровного слоя в плодообразовании культивируемого шампиньона *Agaricus bisporus* (J.Lge) Imbach [2,3,14]. В частности, установлено, что наличие определенных видов микромицетов в почвенном субстрате приводит к уменьшению накопления в среде фенольных веществ и их окисленных форм, являющихся ингибиторами плодообразовательного процесса. В присутствии микромицетов происходит снижение уровня окислительной ферментативной активности *A. bisporus* [14]. Лишь часть видов микромицетов являются прямыми антагонистами по отношению к макромицету, другие же способны регулировать функциональную активность базидиального мицелия косвенно, контролируя насыщенность окружающей среды ароматическими компонентами. Естественно, что при разложении трудно- и легкогидролизуемых растительных субстратов содержание таких соединений различается. Это, в свою очередь, может определять активность определенных видов микромицетов, что в известной мере, объясняет выявленные нами различия в структуре микобиоты на травянистых и древесных субстратах.

Таким образом, использованный в нашей работе оригинальный методический подход, сочетающий изучение динамики разложения растительных остатков и мониторинг изменений в сообществе микро- и макромицетов, позволяет выявить структурно-функциональные различия микобиоты и изменения в ходе процесса естественной минерализации активной и неактивной фракций растительного опада. Различия в составе субстратов определяют различия в составе микромицетных сообществ.

Полученные данные подтверждают также положение о том, что различия в запасах органического вещества в почвах разных биоценозов ЦЛБЗ обусловлены разницей, прежде всего в «качестве» поступающего опада. Унифицированный материал разлагается, по крайней мере, на начальных стадиях с одинаковой скоростью [15], и соответственно этому, наши исследования показали, что относительное содержание видов микромицетов, индифферентных, угнетающих и стимулирующих развитие базидиомицетов на одних и тех же субстратах в разных биогеоценозах практически не различается.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 02-04-48870).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сидорова И.И., Великанов Л.Л. Биологически активные вещества агарикоидных базидиомицетов и их возможная роль в регуляции структуры мико- и микробиоты почв лесных экосистем I. Антибиотическая активность водных экстрактов базидиом некоторых доминантных видов агарикоидных базидиомицетов//Микол. и фитопатол. 2000. Т. 43. Вып. 3. С. 11-17.
2. Шумская Г.Г., Гарибова Л.В. Роль микромицетов почвенного покровного слоя в механизме плодообразования культивируемого шампиньона *Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach. I. Динамика количественного изменения почвенных микромицетов// Микол. и фитопатол. 1986 а. Т. 20. № 1. С. 26-29.
3. Шумская Г.Г., Гарибова Л.В. Роль микромицетов почвенного покровного слоя в механизме плодообразования культивируемого шампиньона *Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach. II. Видовой состав почвенных микромицетов// Микол. и фитопатол. 1986 б. Т. 20. № 2. С. 109-113.
4. Straatsma G., Olijnsma T.W., Gerrits J., Amsing J., Op Den Camp H., Van Griensven L. Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in Button Mushroom Compost and its Effect on Yield// Appl. and Environ. Microbiol. 1999. № 9. P. 3049-3054.
5. Raudonienė V. Micromycetes – producers of phenoloxidases and their significance in bioconversion of plant waste// Summary of doctoral thesis Biomedical sciences. 2003. Institute of Botany, Vilnius, 2003. 36 p.
6. Методы экспериментальной микологии/Под ред. Билай В.И. Киев:Наук. Думка, 1982. 550 с.
7. Domsh K.H., Gams W., Anderson T-H. Compendium of soil fungi. Eching:IHW-Verl., 1993. V. 1. 860 p.
8. Добровольский Г.В., Трофимов С.Я., Дорофеева Е.И., Лузиков А.В., Гей К.А. Скорость разложения лесных подстилок южнотаежных ельников //Лесоведение.1999. № 1. С.1-9.
9. Частухин В.Я., Николаевская М.А. Биологический распад и ресинтез органических веществ в природе. М.: Наука. 1969. 323 с.
10. Озерская С.М., Мирчинк Т.Г. Смена видов грибов -микромицетов по мере разложения березового опада//Микол. и фитопатол. 1981. Т.15. № 2 С.97-101.

11. *Frankland J.C.* Mechanisms in fungal successions// The fungal community, its organization and role on the ecosystem. Edt.D.T.Wicklow and G.C.Carroll. N.Y.: Marcel Dekker, Inc., 1981. P.403-426
12. . *Терехова В.А, Трофимов С.Я.* Влияние перекрестной интродукции микромицетов на минерализацию подстилки двух типов заповедных ельников// Микол.и фитопатол.. 2001. Т.35. №. 4. С.53-58
13. *Сидорова И.И., Великанов Л.Л.* Биологически активные вещества агарикоидных базидиомицетов и их возможная роль в регуляции структуры мико- и микробиоты почв лесных экосистем I. Антибиотическая активность культур подстилочного сапротрофа *Lepista nuda* //Микол. и фитопатол. 2000. Т. 43. Вып. 4. С. 10-16.
14. *Гарибова Л.В., Решетникова И.А., Шумская Г.Г.* Влияние фенольных соединений на рост и развитие микромицетов почвенного покровного слоя и изучение некоторых окислительных ферментов культивируемого шампиньона *Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach // Микол.и фитопатол. 1987. Т. 21. № 1. С. 28-36.
15. *Дорофеева Е.И.* Распределение, запасы и формы органического вещества в почвах южной тайги (на примере Центрально-лесного заповедника) Авт. канд. диссерт., М.: МГУ 1997.24 с.

Таблица 1.

Характеристика некоторых показателей структуры сообществ
микромицетов (средние значения)

Показатель	Не древесные растительные субстраты	Древесные растительные субстраты	Все растительные субстраты
Численность микромицетов, N тыс.КОЕ/г субстрата	93,2	113,0	103,1
Число видов, N _{sp}	6,06	5,48	5,77
Разнообразие комплексов, индекс Шеннона (H)	1,78	1,70	1,74

