

В.А. Ярмолевич, доц., канд. биол. наук;

К. В. Зенюк, асп. (БГТУ, г. Минск);

О.Ю. Баранов, д-р биол. наук, академик-секретарь
(НАН Беларуси, г. Минск);

С.В. Пантелеев, зав. лабораторией; И.А. Хархасова, асп.;

Л.О. Иващенко, асп.

(Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель)

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ СЕЯНЦЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ БЕЛАРУСИ

Микориза, как мутуалистический симбиоз грибов и растений, широко распространена в природе. К примеру, основные в Беларуси лесообразующие виды, сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) и ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.), являются облигатными микотрофами. В настоящее время известно, что корни этих деревьев способны заселять около несколько сотен видов микоризных грибов. Грибы-микоризообразователи играют важную положительную роль в жизнедеятельности растений-хозяев, помогая добывать воду и минеральные элементы питания, повышая устойчивость к стрессовым факторам окружающей среды и инфекционным болезням [1, 2].

С развитием методов молекулярно-генетической идентификации живых организмов появились новые возможности в изучении видового состава микобиомов на растениях. В Республике Беларусь ДНК-анализ грибных сообществ, ассоциированных с растениями, чаще применялся для идентификации патогенных грибов, преимущественно в лесных питомниках, особенно в случаях, когда по симптомам было сложно установить вид болезнетворного организма [3].

Вместе с тем в республике структура микоризных микобиомов на лесных древесных видах, по нашему мнению, в настоящее время изучена недостаточно подробно. Исследования в этой области позволят улучшить понимание процессов формирования и функционирования симбиоза растений и грибов, а в практическом аспекте – выявить высокоэффективные виды и штаммы грибов для разработки и внедрения современных технологий микоризации посадочного материала.

В рамках данной исследовательской работы сбор полевого материала в виде сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской производился в 15 лесных питомниках, расположенных во всех 3-х геоботанических подзонах, выделенных на территории Республики Беларусь. Растения возрастом 1–2 года отбирались в различных отделениях питомника, извлекались из почвы с максимальным сохранением

корневых окончаний, этикетировались, помещались в одноразовые полиэтиленовые пакеты и доставлялись в лабораторию, где хранились при температуре -70 °С до момента выделения ДНК. Предварительная лабораторная подготовка заключалась в отделении корневых окончаний длиной 1–5 мм, промывке их в дистиллированной воде, поверхностном обеззараживании в 70% этаноле 2–3 сек, затем еще одной промывке водой. Общее количество корневых окончаний, взятых для анализа – 168 шт. (117 шт. сосны и 51 ели). Выделение ДНК и идентификация видового состава микоризообразующей микрофлоры растений проведены методами метагеномного анализа (фрагментный анализ и секвенирование) [4], полученная генетическая информация верифицировалась в банке данных NCBI.

Как показали проведенные нами исследования, микоризные микобиомы корней сосны и ели характеризовались достаточно большим разнообразием. Количественные характеристики выявленных таксонов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Количество таксонов микоризных грибов, идентифицированных на корневых системах *Pinus sylvestris* L. и *Picea abies* (L.) Karst. в лесных питомниках методами ДНК-анализа

Показатели	Древесный вид			
	<i>P. sylvestris</i>		<i>P. abies</i>	
	ед.	%	ед.	%
Выявлено микоризных видов, всего:	41	63,1	25	62,5
в том числе из отделов:				
– Аскомицота;	23	56,1	16	64,0
– Базидиомицота;	18	43,9	9	36,0
по типам микоризы:				
– эктомикоризные виды;	36	87,8	20	80,0
– эндомикоризные виды	5	12,2	5	20,0

Всего в лесных питомниках на корневых системах сосны обыкновенной было идентифицировано 65 таксонов грибных организмов, из них микоризных – 41 единица (63,1%). На корнях ели идентифицировано 40 видов различной трофической специализации, в их числе микоризных 25 (62,5%).

Большее половины микоризообразователей относятся к сумчатым грибам (56,1% на сосне и 64,0% – на ели), остальные принадлежат базидиальным. Около 80–90% обнаруженных видов грибов образует эктотрофный тип микоризы (основная часть мицелия находится снаружи корня).

Перечень наиболее распространенных видов микоризообразующих грибов, выявленных нами на корневых системах сенцев сосны и ели, представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Грибы-микоризообразователи, имеющие наибольшую встречаемость на сосне и ели в лесных питомниках, %

Таксон (А – аскомикота; Б – базидиомикота)	<i>P. sylvestris</i>		<i>P. abies</i>	
	встречаемость	средняя доля уча- стия в ми- кобиоме	встречаемость	средняя доля уча- стия в ми- кобиоме
<i>Wilcoxina mikolae</i> (А)	83,0	29,54	90,0	44,60
<i>Peziza</i> sp.1 uncultured OQ694037.1 (А)	42,6	29,50	25,0	9,19
<i>Phialocephala fortinii</i> (А)	36,2	6,25	35,0	23,18
<i>Hyaloscyphaceae</i> my- corrhizal fungus (un- cultured) (А)	36,2	2,26	30,0	9,37
<i>Helotiaceae</i> sp. (un- cultured ectomycor- rhizal fungus) (А)	27,7	37,26	40,0	46,21
<i>Thelephora terrestris</i> (Б)	27,7	1,90	15,0	1,17
<i>Suillus luteus</i> (Б)	23,4	23,69		
<i>Tylospora</i> sp. (uncultured) (Б)	19,1	3,19	25,0	11,06
<i>Helotiaceae</i> sp. (А)	17,0	9,52	–	–
<i>Ilyonectria</i> sp. (А)	14,9	4,65	–	–
JF519383.1 Uncul- tured <i>Agaricomycetes</i> RELIS G2 (Б)	–	–	20,0	3,53
<i>Peziza</i> sp.4 uncultured OQ694036.1 (А)	–	–	15,0	12,90
<i>Peziza</i> sp.2 uncultured OQ694035.1 (А)	–	–	10,0	90,61

Среди самых распространенных микоризных видов 70% принадлежат отделу Аскомикота. Наибольшую встречаемость на сосне обыкновенной (на 83,0% растений) имеет аскомицет *Wilcoxina mikolae*, относящийся к петициевым грибам, он формирует плодовые тела апотеции. Несмотря на имеющиеся в научной литературе сведения, что гриб является широко распространенным видом на представителях рода сосна и многих твердолиственных деревьях [6, 7], его биологические особенности и роль в жизни растений изучены слабо. Кроме того, плодовые тела этого гриба на посадочном материале в лесных питомниках в течение всего времени сбора образцов нами выявлены не были. То же касается некультивируемых видов из таксонов *Peziza*, *Hyaloscyphaceae*, *Helotiaceae*, а также выявленного вида из ро-

да *Ilyonectria*, которые зарегистрированы в базе данных NCBI, но к настоящему времени еще не имеют полного таксономического описания. Из хорошо известных видов корни сосны часто заселяют базидиомицеты *Thelephora terrestris* (телефора земляная) и *Suillus luteus* (масленок обыкновенный). На ели европейской среди распространенных – примерно те же виды, что и на сосне обыкновенной. Исключение составляет гриб *S. luteus*, который имеет достаточно узкую специализацию и формирует микоризу только с представителями рода *Pinus* [8].

Среди распространенных также следует отметить гриб *Phialosephala fortinii*, обнаруженный нами в питомниках более чем на $\frac{1}{3}$ растений как сосны, так и ели. Он относится к отделу Аскомикота и образует на корнях древесных видов эндомикоризу. Считается, что гриб имеет широкий спектр растений-хозяев и достаточно легко культивируется на искусственных питательных средах [9]. Однако в целом этот вид изучен достаточно слабо и, как эндомикоризный гриб, по нашему мнению, мало перспективен для применения в технологиях искусственной микоризации.

Число микоризных грибов, обнаруживаемых на одном растении, увеличивается с повышением возраста (таблица 3).

Таблица 3 – Количество микоризных видов на 1 корневой системе сеянцев различного возраста (сосна обыкновенная и ель европейская), ед.

Количество видов	Возраст растений	
	1 год	2 года
Эндомикоризные грибы		
Максимальное	3	2
Минимальное	0	0
Среднее	0,4±0,1	0,6±0,1
Критерий Стьюдента t	0,92	
Эктомикоризные грибы		
Максимальное	8	9
Минимальное	1	1
Среднее	3,3±0,4	4,7±0,3
Критерий Стьюдента t	3,03	

На одном и том же растении выявлялись до 3 эндо– и до 9 эктомикоризных видов. Сравнивая полученные значения количества видов грибов на сеянцах первого и второго года жизни, следует отметить, что достоверно различалось только количество эктомикоризных видов (полученное значение $t = 3,03$ оказалось выше табличного $t_{0,05} = 2,00$).

Таким образом, в лесных питомниках Беларуси на корнях сосны обыкновенной нами было выявлено 41 видов микоризообразующих

грибов, на ели европейской – 25, около 60% из которых относятся к отделу Аскомикота. Более 80% идентифицированных видов считаются эктормикоризными. Корни каждого растения в питомнике в первый год колонизируют в среднем около 3-х эктормикоризных видов, на второй год их количество возрастает и становится около 5-ти. Среди выявленных нами доминирующих видов большинство оказались слабо изученными, либо вообще не имеющими полного таксономического описания, что требует проведения достаточно подробных исследований в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry / Edited by Z. A. Siddiqui, M. S. Akhtar, K. Futai. – Springer, 2008. – 359 p.

2. Смит С. Э., Рид Д. Дж. Микоризный симбиоз. – Пер. 3-го англ. издания Е.Ю. Ворониной. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 776 с.

3. Баранов О. Ю. [и др.] Молекулярно-генетическая диагностика болезней в лесных питомниках / Лесное и охотничье хозяйство. – 2012. – №6. – с. 21–29.

4. Падутов В. Е., Баранов О. Ю., Воропаев Е. В. Методы молекулярно-генетического анализа. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.

6. *Wilcoxina mikolae* (Chin S. Yang & H.E. Wilcox) Chin S. Yang & Korf. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gbif.org/species/5258583> (Дата обращения: 24.01.2024).

7. Rudawska M., Leski T. Ectomycorrhizal Fungal Assemblages of Nursery-Grown Scots Pine Are Influenced by Age of the Seedlings / Forests. – 2021. – 12, 134. – 16 p.

8. Воронина Е. Ю. Микоризы в наземных экосистемах: экологические, физиологические и молекулярно-генетические аспекты микоризных симбиозов / Микология сегодня. Ю. Т. Дьяков, Ю. В. Сергеев (ред.). Том 1. М.: Национальная академия микологии, 2007. – С. 142–234.

9. Камельчук Я. С. [и др.] Морфолого-культуральные и молекулярно-генетические особенности коллекционных штаммов микоризных грибов *Phialocephala fortinii* и *Pezicula* sp. Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2020. Т. 64, № 5. С. 567–573.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, грант №Б22-002.