

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 581.557.24

© Д. В. Веселкин

ИЗМЕНЧИВОСТЬ АНАТОМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭКТОМИКОРИЗНЫХ ОКОНЧАНИЙ РАЗНОГО СТРОЕНИЯ

VESELKIN D. V. VARIABILITY OF ANATOMICAL PARAMETERS
IN ECTOMYCORRHIZAL TIPS OF DIFFERENT STRUCTURE

Существует несколько принципиальных подходов к классификации эктомикориз древесных растений. В ранних классификациях были выделены группы микориз на основании ограниченного числа легко различимых морфологических или анатомических признаков (Доминик, 1963; Харли, 1963; Семенова, 1980). Подобные системы не являются естественными, и выделяемые в соответствии с ними классификационные единицы не соответствуют определенным таксонам грибов, от вида которых и зависят особенности строения микориз. В настоящее время усилия исследователей направлены на разработку естественной классификации эктомикориз, учитывающей систематическое положение микоризообразующих грибов. С этой целью описываются морфологические, анатомические и биохимические признаки микоризных окончаний, сформированных разными видами грибов (Godbout, Fortin, 1984; Gronbach, Agerer, 1986; Pritsch et al., 1987; Agerer, Weiss, 1989; Agerer, 1996; Dames et al., 1999). Исследования в лабораторных условиях дополняются идентификацией грибов в природе с использованием методов, основанных на анализе ДНК (Kernaghan, 2001). В результате описано значительное разнообразие эктомикориз, на основании чего построены таблицы для их определения (Gronbach, Agerer, 1986; Jansen, Vries, 1989). Наиболее полной сводкой описаний эктомикориз является девятитомное издание «Colour atlas of ectomycorrhizae» Р. Арепера.

Признавая, что анатомические особенности строения эктомикоризных окончаний (грибного чехла, сети Гартига, структуры клеток паренхимы корня) определяются видом гриба, сформировавшего микоризу, мы использовали классификацию Т. Доминика. Эта система базируется на учете анатомических особенностей грибных чехлов и, на наш взгляд, удачна по универсальности и соотношению простоты и эффективности. Выбор классификации Т. Доминика сделан с учетом того, что в исследованиях экологического плана, где необходим анализ большого объема материала, использование естественных, но чрезвычайно дробных классификационных систем затруднено и может усложнить интерпретацию результатов.

Столкнувшись с необходимостью массового анализа анатомических параметров эктомикориз, мы вынуждены были найти ответы на следующие вопросы: 1) насколько специфическими количественными (счетными и размерными) анатомическими признаками обладают микоризы с чехлами разного строения; 2) если эта специфичность проявляется, то на каком классификационном уровне, — разновидностей, родов, подтипов чехлов или на более высоких уровнях. Другими словами, для правильной организации обработки данных и получения обоснованных выводов о динамике количественных анатомических параметров в зависимости от внешних

условий необходимо выяснить, можно ли рассматривать микоризные окончания с чехлами разного строения в качестве однородных совокупностей по тем или иным признакам. Для решения поставленных задач изучен характер варьирования восьми количественных анатомических параметров строения эктомикоризных окончаний в зависимости от структуры их грибных чехлов.

Материалы и методы

Материалом для анализа послужили микоризные окончания (далее для краткости — микоризы) пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.), ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) и сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), собранные в южнотаежных лесах Среднего Урала. Пробные площади, на которых проводили исследования, в разной степени подвержены воздействию промышленных загрязняющих веществ (SO_2 , CU, ZN, Cd, Pb, As, Fe), в силу чего они существенно различаются по почвенным и общим экологическим условиям (Воробейчик и др., 1994), а также по состоянию эктомикориз хвойных (Веселкин, 1997, 1999).

Сбор материала проводили в соответствии с рекомендациями И. А. Селиванова (1981) всегда в конце вегетационного периода. Образцы фиксировали в 4 %-м формалине. Микоризы подроста ели и пихты отобраны в 1995 г. в естественных пихтово-еловых лесах с разной степенью нарушенности без дифференциации микориз по приуроченности к почвенным горизонтам. Корни сосны отобраны в 1997 г. в искусственных древостоях второго класса возраста из гумусового горизонта почв. В 1998 г. отобраны корни двухлетних сеянцев пихты и ели, произрастающих на почве с разной степенью загрязнения или укореняющихся на валежной древесине с деструктивным и коррозионным типами гнилей. Таким образом, собранные материалы разнородны по видовой и возрастной принадлежности растений, а также по климатическим и почвенным условиям, в которых произошло их развитие.

Поперечные срезы микоризных окончаний толщиной 10—15 мкм готовили на замораживающем ротационном микротоме, помещали в глицерин, просматривали и измеряли без окрашивания. Всего проанализировано около 2000 срезов. У каждого окончания фиксировали или рассчитывали следующие параметры.

1. Наличие или отсутствие грибного чехла; в случае его присутствия определяли подтип чехла, принимая во внимание определительную таблицу И. А. Селиванова (1973, 1981); чехлы S и R относились к одной группе бесструктурных чехлов (SR).

2. Общий радиус окончания (r_1) получали в результате двух промеров во взаимно перпендикулярных направлениях от середины центрального цилиндра до наружной кромки чехла (рис. 1).

3. Толщину чехла (m) получали в результате двух промеров по общим радиусам окончания (у чехлов подтипа А толщину не определяли).

4. Радиус корня в микоризном окончании (r_2) рассчитывали как разность r_1 и m .

5. Долю чехла в объеме микоризного окончания (d) определяли по формуле

$$d = \frac{(r_1^2 - r_2^2)}{r_1^2} 100 \%$$

6. Количество слоев клеток паренхимы коры корня подсчитывали, не учитывая танниновые клетки.

7. Глубину распространения гиф сети Гартига по межклетникам коры корня определяли как отношение числа слоев клеток коры корня, оплетенных гифами сети Гартига, к общему числу слоев клеток коры корня.

8. Наличие или отсутствие в экзодерме корня или непосредственно в составе грибного чехла танниновых клеток — уплощенных клеток коры с темноокрашенным содержимым.

9. Наличие или отсутствие тургора клеток паренхимы коры корня фиксировали по потере округлой исходной формы клеток, их уплощению.

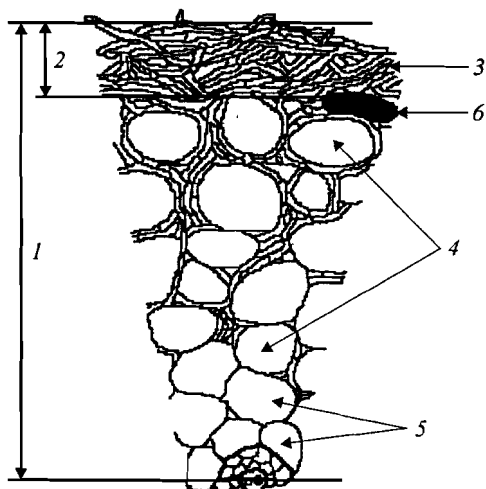


Рис. 1. Схема строения микоризного окончания и его основных промеров.

1 — общий радиус окончания; 2 — толщина грибного чехла; 3 — грибной чехол плектенхиматического строения, подтип В; 4 — пять слоев клеток коры корня, оплетенных гифами сети Гартига; 5 — два слоя клеток коры корня, не оплетенных гифами сети Гартига; 6 — танниновая клетка, не включенная в грибной чехол.

Параметры 1—5 определяли в 21 сформированной выборке (выборка — совокупность микориз одного вида растения одного возраста в одном местообитании), параметры 6—9 — в 10 выборках. Данные обрабатывали стандартными методами вариационной статистики и дисперсионного анализа. Сравнение признаков микориз с чехлами разного строения проводили отдельно в пределах каждой выборки. Такой громоздкий способ обработки данных обусловлен зависимостью некоторых важных рассматриваемых признаков микориз от условий местообитания (Веселкин, 1999). Далее в тексте, если речь идет о существовании каких-либо различий счетных или размерных признаков, это означает, что различия достоверны минимум на уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

У изученных растений обнаружены эумицетные хальмофаговые эктомикоризы типичного строения, содержащие более или менее развитый грибной чехол и сеть Гартига. Изучение срезов без окрашивания не позволило оценить степень развития мицелия внутри клеток паренхимы корня и внутри центрального цилиндра, поэтому существования каких-либо иных типов микориз (экзоэндомикориз, псевдомикориз) не установлено. В общей сложности обнаружены микоризы с чехлами А, В, С, D, E, BF, F, G, H, I, K, N, O, P, Q и SR.

Число подтипов чехлов в одной выборке составляет 4—10, в среднем — 7—9. Повсеместно представлены микоризы с плектенхиматическими и бесструктурными чехлами. Псевдопаренхиматические чехлы в некоторых местообитаниях не обнаружены у темнохвойных, а комбинированные — у темнохвойных и сосны. У сосны вообще не встречались чехлы BF. Наиболее обильны плектенхиматические чехлы (в среднем около 50 % микориз), далее следуют псевдопаренхиматические (24 %) и бесструктурные (14 %), доля переходных и комбинированных чехлов составляет 8 и 5 % соответственно.

В пределах ряда подтипов чехлов выделены более мелкие совокупности, больше соответствующие «разновидностям» А. И. Селиванова (1973), а не «родам» Т. Доминика. Например, среди чехлов подтипа F обнаружены чехлы с размером ячеек псевдопаренхимы 4—8 (F1) и 12—18 мкм (F2). У чехлов H и I также обнаружены

Частота различий (%) между микоризами с чехлами разного строения
(по результатам серии однофакторных дисперсионных анализов)

Параметры	Различия между микоризами с чехлами		
	разновидностей одного подтипа	разных подтипов в пределах группы подтипов	разных групп подтипов
Число выборок или подвыборок	28—35*	18—48**	10—21
Общий радиус	14.3	12.5	57.1
Радиус корня	11.4	16.7	28.6
Толщина чехла	25.7	13.5	95.2
Доля объема чехла	20.0	10.5	81.0
Число слоев клеток коры корня	8.6	32.0	10.0
Встречаемость танниновых клеточек	62.9	24.0	90.0
Глубина распространения сети Гартига	2.9	32.0	10.0
Доля окончаний с тургором	7.1	5.6	—

Примечание. Одной звездочкой обозначена совокупность микориз с чехлами разновидностей одного и того же подтипа в пределах выборки; двумя — совокупность микориз с чехлами разных подтипов одной группы в пределах выборки. Прочерк — отсутствие различий.

чехлы с мелкими и крупными ячейками псевдопаренхимы, которые обозначены, как Н1, П1 и Н2, П2 соответственно. Однако чаще критерием для выделения разновидностей внутри подтипа было наличие или отсутствие танниновых клеток, включенных в грибной чехол. По нашим наблюдениям, такое включение, в зависимости от выборки, может наблюдаться у 0—25 % чехлов В, D, E, BF, F и у 15—80 % бесструктурных чехлов. Использована также классификационная категория крупнее подтипа — группа подтипов. В одну группу объединяли чехлы с одинаковой анатомической структурой (сложением): плектенхиматические (А, В, С, D, E), псевдопаренхиматические (F, G, H, I), комбинированные или двойные (K, N, O, P, Q). В отдельные группы отнесены чехлы BF и SR.

В сжатом виде основные результаты, полученные при сравнении параметров анатомического строения микориз с чехлами различного строения (на уровне разновидностей, подтипов и групп подтипов), представлены в табл. 1.

Разновидности. Микоризы с чехлами, относящимися к разновидностям одного подтипа, явно (в 63 % подвыборок) дифференцируются друг от друга только по признаку встречаемости микориз с танниновыми клетками, что обусловлено, несомненно, использованным способом выделения разновидностей. Большинство прочих структурных особенностей микориз на этом уровне также обусловлено присутствием или отсутствием танниновых клеток в чехле. Например, наблюдаемые в четверти подвыборок различия между разновидностями по толщине чехлов обусловлены тем, что присутствие в чехлах подтипов В, BF, F и SR танниновых клеточек обычно сопряжено с возрастанием их мощности в 1.5—2.2 раза. Кроме того, для микориз с чехлами В и BF иногда, в случае включения танниновых клеток в чехол, характерно не только возрастание толщины, но и возрастание его общих поперечных размеров.

Микоризы с чехлами F1 и F2, Н1 и Н2, П1 и П2 однородны по частоте встречаемости танниновых клеток, но чехол F2, как правило, в 1.5—2.5 раза толще, чем F1. Таким образом, микоризы с чехлами одноименных подтипов не всегда и не по всем параметрам являются однородными группами, но в большинстве случаев различия между разновидностями редки.

Подтипы чехлов в пределах группы подтипов. Микоризы с чехлами различных подтипов, но с одинаковой анатомической структурой чехла (с одинаковым сложением) только по числу слоев клеток коры корня и глубине распространения сети Гартига различаются более чем в 30 % подвыборок. По количеству слоев клеток

кору корня чаще всего различаются микоризы с чехлами А и В, причем в А-микоризах количество слоев клеток коры корня, не потерявших исходную форму, выше. По всей вероятности, это связано с тем, что в окончаниях с чехлом В в танниновые клеточки превращается большая часть клеток коры корня (встречаемость танниновых клеток — 58 %), по сравнению с микоризами с чехлом А (14 %). Намечающиеся по данному признаку различия между этими микоризами можно объяснить, рассматривая рыхлый, несформированный чехол подтипа А в качестве индикатора молодого, не до конца сформировавшегося окончания (Еропкин, 1977; Семенова, 1980). В таком случае более высокое обилие танниновых клеток в чехлах В может быть связано с возрастным накоплением отмирающих клеточных элементов (Семенова, 1980; Ritter et al., 1989).

Из 8 зарегистрированных различий по глубине распространения сети Гартига 5 относятся к паре чехлов А и В, причем наибольшее распространение грибных гиф в одних ситуациях сопряжено с чехлом А, а в других — с чехлом В.

Большая часть других различий, установленных на уровне подтипов, относится к микоризам с чехлами F и G и реже — с чехлами I и G. Подтипы F и G одновременно зарегистрированы в 14 подвыборках, подтипы I и G — в 8. В 3 случаях микоризы с чехлом G имели меньший общий радиус и меньший радиус корня, чем микоризы с чехлом F (на 20 и 16 % соответственно). В остальных случаях поперечные размеры G-микориз также меньше (но недостоверно): в среднем различия достигают 8—10 %. Для G-микориз по сравнению с F- и I-микоризами характерно также меньшее (на 10—12 %) количество слоев клеток коры корня. В 5 случаях для чехла G установлена меньшая (примерно на 40 %) толщина по сравнению с чехлом подтипа F (в среднем разность составляет 20 %). Иногда с чехлом G ассоциируется относительно более глубокое проникновение гиф гриба по межклетникам коры корня, чем с F и I. G-микоризы (род Ga по Доминику) преимущественно образуются грибом *Cenococcium graniforme* (Sow.) Fred et Winge. Микоризы, образованные этим грибом, рассматриваются как паразитические или малозффективные симбиозы, положительно влияющие на растения только в эдафически неблагоприятных условиях произрастания (Шубин, 1988). В этой связи установленные структурные особенности G-микориз (относительно слабо развитый чехол, меньшие общие поперечные размеры и меньшее количество слоев клеток коры корня) можно рассматривать как свидетельство их пониженной физиологической активности по сравнению с другими псевдопаренхиматическими чехлами.

Группы подтипов. В отличие от разновидностей и подтипов чехлов в пределах одной группы различия между микоризами разных групп подтипов по ряду параметров выражены очень заметно. Представленные в табл. 2 попарные частоты различий между микоризами с чехлами разных групп подтипов позволяют детализировать выводы, которые можно сделать исходя из данных табл. 1.

Наиболее четкие различия обнаруживаются по признаку толщины чехла и его относительного вклада в формирование общего объема микоризы. Чаще всего отличаются от всех других групп чехлы плектенхиматического сложения (в 37—79 % случаев) и бесструктурные (19—67 %). Различия между чехлами с элементами псевдопаренхиматической структуры (переходными, собственно псевдопаренхиматическими и комбинированными) обнаруживаются реже (в 7—14 % случаев). Чехлы разного анатомического сложения обладают не просто различными абсолютными показателями толщины, но и характеризуются различным вкладом грибного партнера в формирование объема микоризного окончания. Поскольку разновидности или подтипы чехлов одной группы по толщине дифференцируются слабо, можно предположить, что этот признак более всего связан именно с базовой анатомической структурой чехла, а не с какими-либо тонкими анатомическими особенностями и не с наличием или отсутствием инкорпорированных в чехол отмерших клеток коры корня.

На основании наших данных можно построить следующий ряд возрастания толщины чехлов разной структуры: плектенхиматические—переходные—псевдопа-

Таблица 2

**Частота различий (%) между микоризами с чехлами различных групп подтипов
(по результатам серии попарных сравнений)**

Сравниваемые пары	Параметры						
	1	2	3	4	5	6	7
Плект.—BF	18.8	12.5	37.5	43.8	11.1	—	—
Плект.—Псев.	42.1	5.3	79.0	79.0	10.0	50.0	10.0
Плект.—Комб.	14.3	7.1	64.1	64.1	—	33.3	—
Плект.—Бесстр.	38.1	23.8	57.1	66.7	10.0	70.0	—
BF—Псев.	14.3	—	7.1	14.3	—	22.2	—
BF—Комб.	10.0	—	10.0	0.0	—	—	—
BF—Бесстр.	12.5	18.8	31.3	18.6	—	55.6	—
Псев.—Комб.	21.4	7.1	14.3	14.3	—	—	—
Псев.—Бесстр.	21.1	21.1	57.9	52.6	—	80.0	—
Комб.—Бесстр.	21.4	28.6	28.6	35.7	—	60.0	—
Число пар	10—21				8—10		

Примечание. Группы подтипов чехлов: Плект. — плектенхиматические чехлы; BF — переходные; Псев. — псевдопаренхиматические; Комб. — комбинированные, или двойные; Бесстр. — бесструктурные. Параметры: 1 — общий радиус, 2 — радиус корня, 3 — толщина чехла, 4 — доля объема чехла, 5 — число слоев клеток коры корня, 6 — встречаемость танниновых клеток, 7 — глубина распространения сети Гартига. Прочерк — отсутствие различий.

ренхиматические—комбинированные. Эта закономерность с той или иной степенью достоверности воспроизводится в 15 из 21 проанализированной выборки и в среднем комбинированные чехлы в 2 раза толще, чем плектенхиматические. В ряде выборок (как правило, в условиях сильного загрязнения) указанный порядок или существенно нарушается, или вообще не обнаруживается различий в толщине между разными группами. Для бесструктурных чехлов не удается определить постоянного места в этом ряду, так как примерно в равном количестве случаев они оказываются как наименее, так и наиболее развитыми. Однако микоризы с бесструктурными чехлами четко дифференцируются от всех остальных групп благодаря высокой встречаемости танниновых клеток (83 %), что в 1.5—2.8 раз выше, чем в других группах подтипов. Заметно различаются по частоте встречаемости танниновых клеток и микоризы с плектенхиматическими, псевдопаренхиматическими и комбинированными чехлами — 53, 37 и 29 % соответственно.

Выводы

По основным количественным анатомическим параметрам микоризы с чехлами разновидностей одноименных подтипов и микоризы с чехлами разных подтипов, но с одинаковым сложением довольно редко различаются между собой (рис. 2). Другими словами, они являются более или менее однородными группами. Микоризы с чехлами разного анатомического сложения в большинстве случаев дифференцируются друг от друга по признаку толщины грибного чехла и частоте встречаемости танниновых клеток.

Учитывая выявленную неоднородность микориз с чехлами различного строения по изученным признакам, нельзя проводить анализ зависимости анатомического строения микориз от внешних условий, оперируя средними оценками для всей их совокупности. Поскольку наибольшим числом специфических размерных особенностей характеризуются группы микориз, выделяемые по признаку анатомического сложения чехлов, именно на этом уровне целесообразно изучать экологически обусловленную изменчивость строения эктомикориз.

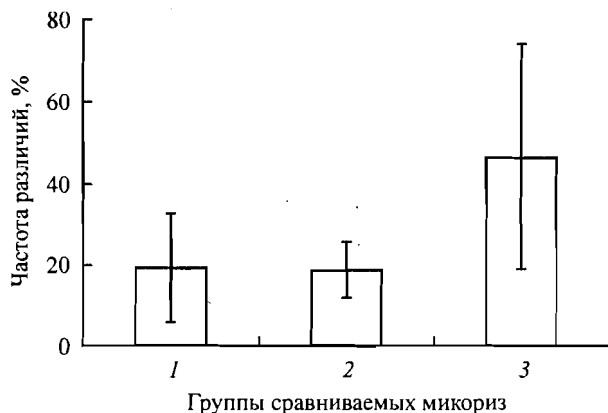


Рис. 2. Средняя частота различий по всем признакам в различных группах микориз. Линии — 95 %-й доверительный интервал.

1 — среди микориз с чехлами разновидностей одного подтипа; 2 — среди микориз с чехлами разных подтипов в пределах группы подтипов; 3 — среди микориз с чехлами разных групп подтипов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (01-04-96407), Министерства образования РФ (грант Е00-6.0-119) и гранта № 280 6-го конкурса-экспертизы проектов молодых ученых РАН 1999 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Веселкин Д. В. Реакция микоризных симбиозов ели и пихты на техногенное загрязнение // Проблемы лесной микологии и фитопатологии. М., 1997. С. 19—20.
- Веселкин Д. В. Реакция эктомикориз хвойных на техногенное загрязнение: Автореф. ... дис. канд. биол. наук. Екатеринбург, 1999. 21 с.
- Воробейчик Е. Л., Садыков О. Ф., Фарафонов М. Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: Наука, 1994. 280 с.
- Доминик Т. Классификация микориз // Микориза растений. М.: Сельхозиздат, 1963. С. 245—258.
- Еропкин К. И. Мицелиальные чехлы и их взаимосвязь с формами микоризного окончания хвойных // Микориза и другие формы консортивных отношений в природе. Пермь, 1977. С. 78—81.
- Селиванов И. А. Вопросы терминологии и классификации микориз и микоризоподобных образований // Микориза растений. Пермь, 1973. С. 3—44.
- Селиванов И. А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М.: Наука, 1981. 232 с.
- Семенова Л. А. Морфология микориз сосны обыкновенной в спелых лесах // Микоризные грибы и микоризы лесообразующих пород Севера. Петрозаводск, 1980. С. 103—132.
- Харли Дж. Биология микоризы // Микориза растений. М.: Сельхозиздат, 1963. С. 15—244.
- Шубин В. И. Микоризные грибы Северо-Запада европейской части СССР. (Экологическая характеристика). Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1988. 175 с.
- Agerer R. Ectomycorrhizae of *Tomentella albomarginata* (Thelephoraceae) on Scots pine // *Mycorrhiza*. 1996. Vol. 6, N 1. P. 1—7.
- Agerer R., Weiss M. Studies on ectomycorrhizae. XX. Mycorrhizae formed by *Thelephora terrestris* on Norway spruce // *Mycologia*. 1989. Vol. 81, N 3. P. 444—453.
- Dames J. F., Straker C. J., Scholes M. C. Ecological and anatomical characterization of some *Pinus patula* ectomycorrhizas from Mpumalanga, South Africa // *Mycorrhiza*. 1999. Vol. 9, N 1. P. 9—24.

Godbout C., Fortin J. A. Synthesized ectomycorrhizae of aspen: fungal genus level of structural characterization // *Can. J. Bot.* 1984. Vol. 63, N 2. P. 252—256.

Gronbach E., Agerer R. Charakterisierung und Inventur der Fichten-Mykorrhizen im Högwald und deren Reaktionen auf saure Beregnung // *Forstwiss. Cbl.* 1986. Bd 105, H. 4. S. 329—335.

Jansen A. E., Vries de F. M. Mycorrhizas on Douglas fir in the Netherlands // *Ecol. and Appl. Aspects of Ecto- and Endomycorrhizal Assoc.* Praha, 1989. Pt 1. P. 197—200.

Kernaghan G. Ectomycorrhizal fungi at tree line in the Canadian Rockies II. Identification of ectomycorrhizae by anatomy and PCR // *Mycorrhiza*. 2001. Vol. 10, N 5. P. 217—229.

Pritsch K., Munch J. C., Buscot F. Morphological and anatomical characterisation of black alder *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. ectomycorrhizas // *Mycorrhiza*. 1997. Vol. 7, N 4. P. 201—216.

Ritter T., Kottke I., Oberwinkler F. Vitality and ageing of the ectomycorrhizae of damaged and undamaged trees // *Ecol. and Appl. Aspects of Ecto- and Endomycorrhizal Assoc.* Praha, 1989. Pt 1. P. 415—421.

Институт экологии растений и животных УрО РАН
Екатеринбург

Поступила 4 VII 2001

SUMMARY

The relation between eight quantitative anatomical parameters of ectomycorrhizal tips and structure of fungal mantles have been studied. Differences between mycorrhizas with mantles of the same subtype, and between mycorrhizas with mantles of different subtypes, but the same anatomical structure, have been shown to be rather rare. Mycorrhizas with mantles of different anatomical structure (plectenchymatouse, pseudoparenchymatouse, transitional, combined, and non-structural) have bright specific features.

Рецензент — А. Е. Коваленко