

**В. С. Микрюков<sup>1</sup>, О. В. Дуля<sup>1</sup>, П. В. Кондратков<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт экологии растений и животных УрО РАН  
г. Екатеринбург, Россия*

<sup>2</sup>*Уральский федеральный университет  
г. Екатеринбург, Россия  
e-mail: vmikryukov@gmail.com*

## **РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВЫБРОСАМИ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ЗАВОДА\***

Работа направлена на изучение разнообразия сообществ грибов, образующих арбускулярную микоризу (ГАМ, отдел Glomeromycota), в бореальных лесах в условиях загрязнения крупным источником промышленных выбросов. Интерес к данной группе симбиотрофных грибов обусловлен их ролью в функционировании

травянистой растительности южной тайги, подавляющее большинство видов которой облигатно микоризные [3]. Кроме того, считается, что обилие ГАМ и состав их сообществ в почве детерминируют направление процессов возобновления растительности загрязненных территорий [12].

© Микрюков В. С., Дуля О. В., Кондратков П. В., 2015

\* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01699), Программы развития ведущих научных школ (НШ-2840.2014.4) и Программы Президиума РАН «Живая природа» (12-П-4-1026).

**Сбор материала** проводили в елово-пихтовых лесах в окрестностях Среднеуральского медеплавильного завода (Свердловская область, г. Ревда), в составе выбросов которого преобладают кислотные газы и тяжелые металлы [2]. В августе 2013 г. в двух зонах, контрастно различающихся по концентрациям тяжелых металлов в почве – фоновой (в 30 км к западу от завода) и импактной (в 2,5 км) – отобраны образцы лесной подстилки, для которых был проведен молекулярно-генетический анализ ГАМ (21 образец в фоновой и 15 – в импактной зоне). В каждой точке отбора на площадках 0,5×0,5 м оценено проективное покрытие видов травяно-кустарничкового яруса (ТКЯ).

Для **молекулярно-генетического анализа** использован метод изучения полиморфизма концевых рестрикционных фрагментов ДНК (*terminal restriction length polymorphism, T-RFLP*), в результате которого на результирующем профиле фрагментов ДНК исследуемого образца представлены пики, интерпретируемые как отдельные фило типы ГАМ (операциональные таксономические единицы), а высота/площадь каждого пика – как показатель относительного обилия фило типа в образце. Методика подробно изложена у Mikryukov с соавт.

[7]. Оценка дифференциации **сообществ** ГАМ разных образцов выполнена с помощью метода главных координат (*principal coordinate analysis, PCoA*) на основе матриц несходства, рассчитанных с использованием индекса Брея – Кёртиса. Значимость различий образцов между зонами нагрузки оценивали с помощью непараметрического многомерного однофакторного дисперсионного анализа (10 000 перестановок) [4]. Весь анализ выполнен в ПО R v.3.0.2 [8] в пакете vegan v.2.1–41 [10].

Для оценки **степени микоризации корней** доминирующих видов ТКЯ в октябре 2014 г. в фоновой зоне отобраны *Linnaea borealis* L. (10 особей), *Oxalis acetosella* L. (13) и *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth (11); в импактной – *Agrostis capillaris* L. (15), *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. (12), *C. arundinacea* (5) и *Sanguisorba officinalis* L. (3). Корни обрабатывали по стандартной методике [9], включающей мацерацию в 10 % КОН и окрашивание 0,07 % анилиновой синью, после чего определяли частоту встречаемости микоризы (*F*) и интенсивность ее развития (*D*) [1].

Согласно полученным результатам проективное покрытие и альфа-разнообразие ТКЯ в 10 раз выше в фоновой зоне, чем в импакт-

Таблица 1

Параметры напочвенного покрова, разнообразия ГАМ и микоризации (над чертой представлена *F*, %, под чертой – *D*) травянистых растений в зонах с разной степенью трансформации среды; представлены средние значения и станд. ошибки ( $m \pm se$ )

Параметр	Фоновая зона		Импактная зона	
	$m \pm se$	<i>min</i> – <i>max</i>	$m \pm se$	<i>min</i> – <i>max</i>
Проективное покрытие ТКЯ, %	69,5 ± 5,4	15–100	6,4 ± 2,4	0 – 30
Количество видов ТКЯ на 0,25 м <sup>2</sup>	10,67 ± 0,74	3–16	1,93 ± 0,28	0 – 5
Количество фило типов ГАМ в образце	23,3 ± 1,2	11–38	18,8 ± 0,8	15 – 24
Индекс Шеннона ГАМ	2,0 ± 0,1	1,2–2,8	1,8 ± 0,10	1,1 – 2,8
Выравненность Пиелу ГАМ	0,6 ± 0,02	0,4–0,8	0,6 ± 0,03	0,4 – 0,8
Параметры микоризации растений				
<i>L. borealis</i>	54,7 ± 3,8 2,9 ± 0,2	28,8–69,4 2,0–3,9	–	–
<i>O. acetosella</i>	21,0 ± 8,2 0,4 ± 0,2	0–72,9 0–1,5	–	–
<i>C. arundinacea</i>	21,9 ± 4,2 1,4 ± 0,2	4,1–44,8 0,5–2,3	2,4 ± 1,6 0,2 ± 0,1	0 – 9,3 0 – 0,6
<i>S. officinalis</i>	–	–	35,4 ± 9,2 1,8 ± 0,3	17,1 – 55,9 1,1 – 2,5
<i>A. capillaris</i>	–	–	7,1 ± 1,2 0,9 ± 0,1	1,3 – 18,1 0,1 – 1,6
<i>B. pinnatum</i>	–	–	1,5 ± 0,8 0,1 ± 0,1	0 – 10,3 0 – 0,6

ной (табл. 1). В фоновой зоне обнаружено 37 видов ТКЯ, 80 % их общего обилия приходится на *O. acetosella*, *Ajuga reptans* L., *Athyrium filix-femina* (L.) Roth, *Aegopodium podagraria* L., *Stellaria holostea* L., *Fragaria vesca* L., *C. arundinacea*, *Maianthemum bifolium* (L.) F. W. Schmidt, *Cerastium pauciflorum* Stev. ex Ser., *Dryopteris carthusiana* (Vill.) H. P. Fuchs. ТКЯ импактной зоны представлен всего 9 видами, 5 из которых зарегистрированы в точках отбора образцов: *A. capillaris*, *B. pinnatum*, *Vaccinium myrtillus* L., *V. vitis-idaea* L., *S. officinalis*, тогда как 4 были встречены за их пределами: *Atragea sibirica* L., *Equisetum sylvaticum* L., *Lathyrus vernus* (L.) Bernh. и *C. arundinacea*.

По результатам оценок микоризации корней в фоновой зоне ГАМ выявлены в 70 % полей зрения в корнях *O. acetosella* и *L. borealis*, а также 45 % – *C. arundinacea*. В импактной зоне ГАМ наиболее обильно (до 56 %) колонизировали корни *S. officinalis*, произрастающей в лесных окнах, в то время как максимальные значения  $F$  у остальных видов составили только 18 %. Колонизация *C. arundinacea* (единственного вида, произрастающего в обеих зонах) была ниже в 10 раз в импактной зоне по сравнению с фоновой.

По результатам молекулярно-генетического анализа общее количество филоципов ГАМ в фоновой зоне составило 75 (с учетом малочисленных филоципов – 166), в импактной – 61 (151). Отличия сообществ между зонами по индексам разнообразия и выравниваемости также незначительны. Согласно значениям индексов Брея – Кёртиса, сообщества ГАМ не различаются между зонами ( $F(1; 34) = 0,07, p = 0,79$ ).

С учетом того, что разнообразие ГАМ, как правило, тесно связано с параметрами расти-

тельных сообществ, полученные результаты неожиданны [6], так как травянистую растительность импактной зоны кардинально отличает от фоновой как видовой состав, так и десятикратно сниженное альфа-разнообразие и обилие. Кроме того, ГАМ считается одной из наиболее чувствительных к избытку тяжелых металлов групп грибов [5], что косвенно подтверждается нашими оценками микоризации видов ТКЯ в разных зонах.

Наблюдаемое сходство сообществ ГАМ между зонами может быть обусловлено тем, что многие виды ГАМ неспецифичны по отношению к растениям [11], в связи с чем небольшое количество видов ТКЯ, произрастающих на импактной территории, может поддерживать разнообразие ГАМ на фоновом уровне. Тем не менее мы обнаружили 15–23 филоципов ГАМ в шести местах сбора в импактной зоне, в которых было зарегистрировано отсутствие ТКЯ. Это удивительно с учетом ограниченной способности ГАМ к расселению и почти полным отсутствием разносчиков спор на этой территории [7]. По нашему мнению, наличие ГАМ на участках без ТКЯ, а также сходство сообществ ГАМ импактной зоны с фоновыми может быть обусловлено «захоронением» их спор в загрязненной подстилке.

Можно предполагать, что обнаруженные сообщества ГАМ на импактной территории представляют своеобразный «отпечаток» менее нарушенной растительности, населявшей эту территорию в начале работы завода. Этот банк спор аналогично банку семян представляет пул для колонизации растений в процессе восстановления растительности импактной зоны.

### Список литературы

1. Бетехтина А. А., Гладких К. В., Кондратков П. В. Эндомикоризы цветковых и споровых растений // Труды Института биоресурсов и прикладной экологии. Оренбург, 2004. Вып. 4. С. 12–18.
2. Воробейчик Е. Л., Трубина М. Р., Хантемирова Е. В., Бергман И. Е. Многолетняя динамика лесной растительности в период сокращения выбросов медеплавильного завода // Экология. 2014. № 6. С. 448–458.
3. Akhmetzhanova A. A., Soudzilovskaia N. A., Onipchenko V. G., Cornwell W. K., Agafonov V. A., Selivanov I. A., Cornelissen J. H. C. A rediscovered treasure: mycorrhizal intensity database for 3000 vascular plants species across the former Soviet Union // Ecology. 2012. V. 93, № 3. P. 689.
4. Anderson M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance // Austral. Ecol. 2001. V. 26, № 1. P. 32–46.
5. Baldrian P. Effect of Heavy Metals on Saprotrophic Soil Fungi // Soil heavy metals. Eds. Sherameti I. & Varma A. Heidelberg: Springer Verlag, 2010. P. 263–279.

6. Johnson N. C. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales // *New Phytol.* 2010. V. 185, № 3. P. 631–647.
7. Mikryukov V. S., Dulya O. V., Vorobeichik E. L. Diversity and spatial structure of soil fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in forest litter contaminated with copper smelter emissions // *Water, Air, Soil Pollut.* 2015 (in press). DOI:10.1007/s11270-014-2244-y.
8. Oksanen J., Blanchet F. G., Kindt R. et al. *Vegan: Community Ecology Package*. 2015. URL: <http://R-Forge.R-project.org/projects/vegan/>
9. Phillips J. M., Hayman D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection // *Transactions of the British Mycological Society.* 1970. V. 55. P. 158–161.
10. *R Core Team.* R: A language and environment for statistical computing. 2015. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. URL: <http://www.R-project.org/>.
11. Saks Ü., Davison J., Öpik M. et al. Root-colonizing and soil-borne communities of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate forest understorey // *Botany.* 2013. P. 1–9.
12. Toler H. D., Morton J. B., Cumming J. R. Growth and metal accumulation of mycorrhizal sorghum exposed to elevated copper and zinc // *Water, Air, and Soil Pollution.* 2005. V. 164, № 1–4. P. 155–172.

V. S. Mikryukov<sup>1</sup>, O. V. Dulya<sup>1</sup>, P. V. Kondratkov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of plant and animal ecology UrB RAS, Ekaterinburg*

<sup>2</sup>*Ural federal university, Ekaterinburg*

*e-mail: vmikryukov@gmail.com*

## DIVERSITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI UNDER COPPER SMELTER POLLUTION

**Summary.** The diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities in the forest litter and intensity of mycorrhizal colonization of dominating herb species were studied, in sites with two contrasting levels of contamination with copper smelter emissions. The fungal community structure was assessed using T-RFLP analysis.

In the contaminated area, the diversity and abundance of herb layer was ten times lower than in the control area. The intensity of mycorrhizal colonization of host plants also decreased under contamination. However, the phylotypic richness of AMF in the forest litter only slightly decreased

under contamination, and the evenness, composition and structure of AMF communities from the contaminated and control areas were similar.

It was suggested that few plant species in the contaminated area may maintain high AMF diversity. However, 15–23 AMF phlotypes were registered, in bare sample plots in the contaminated area. It is very likely that phlotypes, found in the bare plots, as well as between-zone similarity of AMF communities resulted from «burials» of AMF spores in the litter's thick layer in the contaminated area and represent a «footprint» of weakly disturbed stages of the herb vegetation.

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Уральский федеральный университет первого Президента России Б.Н. Ельцина  
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова  
Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН  
Институт экологии растений и животных УрО РАН  
Русское ботаническое общество  
Национальная академия микологии  
Санкт-Петербургское микологическое общество

## **БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ ГРИБОВ И ГРИБОПОДОБНЫХ ОРГАНИЗМОВ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ**

Материалы Всероссийской конференции с международным участием  
Екатеринбург, 20–24 апреля 2015 г.

Екатеринбург  
Издательство Уральского университета  
2015

УДК 582.28(063)  
Б636

*Издание осуществлено при финансовой поддержке  
Российского фонда фундаментальных исследований  
(грант № 15-04-20160)*

**Редакционная коллегия:**

ответственный редактор – заслуженный деятель науки РФ,  
доктор биологических наук, проф. *В. А. Мухин*  
доктор биологических наук, проф. *А. Е. Коваленко*  
доктор биологических наук, проф. *А. В. Кураков*  
доктор биологических наук *Д. В. Веселкин*  
доктор биологических наук *А. Г. Ширяев*  
кандидат биологических наук, доц. *А. Г. Пауков*  
кандидат биологических наук, доц. *А. С. Третьякова*  
кандидат биологических наук *О. С. Ширяева*

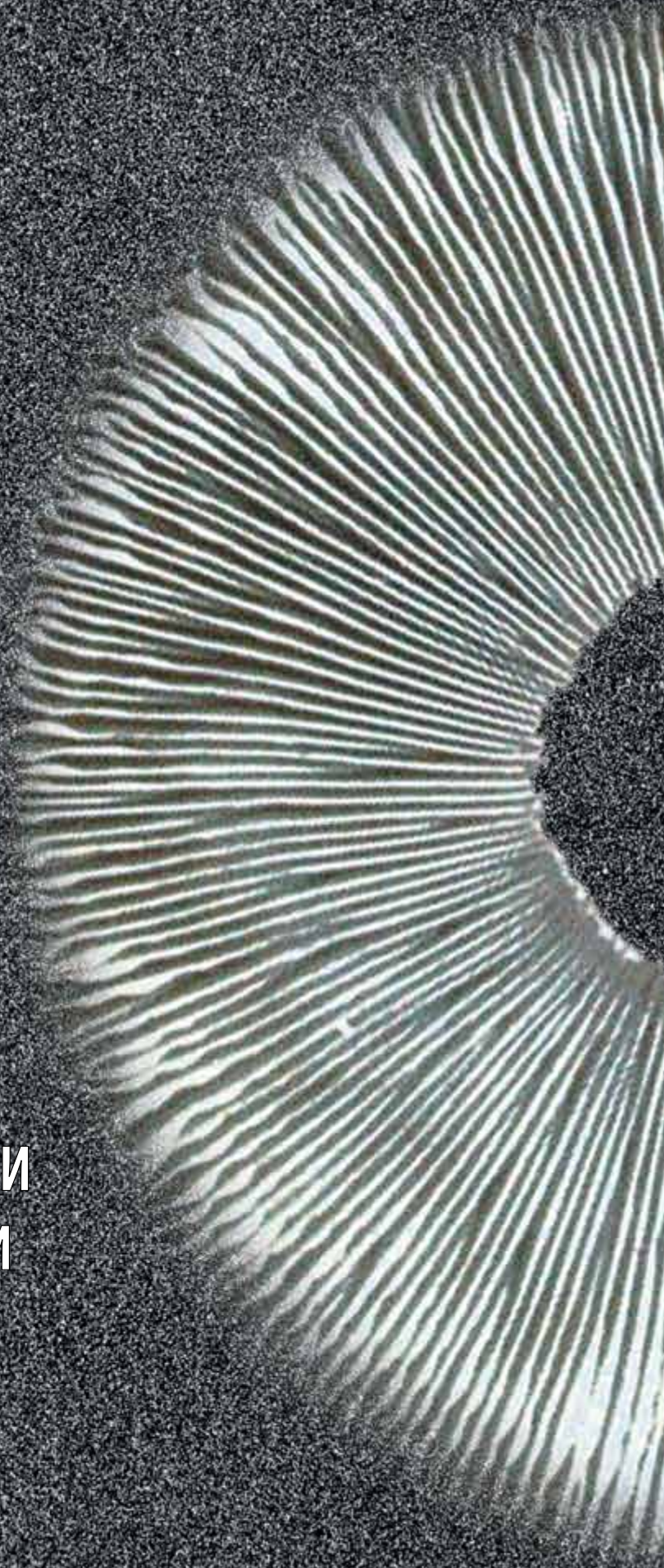
**Биоразнообразие** и экология грибов и грибоподобных организ-  
Б636 мов северной Евразии : материалы Всерос. конф. с международ. уча-  
стием. Екатеринбург, 20–24 апреля 2015 г. Екатеринбург : Изд-во Урал.  
ун-та, 2015. – 324 с.

ISBN 978-5-7996-1438-6

В сборнике представлены материалы докладов участников Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие и экология грибов и грибоподобных организмов северной Евразии», в которых рассматривается широкий круг вопросов, касающихся биологического разнообразия, экологии, биохимии, цитофизиологии, генетики грибов и грибоподобных организмов, а также биоразнообразия, экологии лишайников и лишенофильных грибов в экосистемах северной Евразии. Значительное число докладов посвящено вопросам биоразнообразия и экологии фито- и энтомопатогенных грибов, использованию грибов в биотехнологии.

Книга предназначена для широкого круга специалистов – биологов и генетиков, микологов и экологов, фитопатологов и микробиологов, биотехнологов, а также для студентов и преподавателей университетов, сельскохозяйственных, педагогических, медицинских и лесохозяйственных вузов.

УДК 582.28(063)

A high-magnification microscopic image of a circular biological structure, possibly a spore or a cross-section of a microorganism. The structure is characterized by numerous fine, parallel, radial lines that create a textured, fan-like appearance. The center of the structure is a darker, more solid-looking area. The background is a dark, grainy surface.

**БИОРАЗНООБРАЗИЕ И  
ЭКОЛОГИЯ ГРИБОВ И  
ГРИБОПОДОБНЫХ  
ОРГАНИЗМОВ  
СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ**