

БИОРАЗНООБРАЗИЕ,  
СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 631.46 : 574.472 : 579.266.2

МИКРОМИЦЕТЫ ГИФОСФЕРЫ МАКРОМИЦЕТОВ:  
ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )  
И СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА

© 2020 г. А. Г. Зуев\*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Москва, Россия*

*\*e-mail: agzuev.sevin@gmail.com*

Поступила в редакцию 14.01.2019 г.

После доработки 11.11.2019 г.

Принята к публикации 20.12.2019 г.

Сапротрофные микромицеты играют важную роль в почвенных пищевых сетях как напрямую, так и оказывая влияние на рост растений и мицелия высших грибов, мобилизуя труднодоступные азотсодержащие органические вещества, характерные для состава гумуса почв бореальной зоны. Успешное применение изотопных методов для понимания роли микро- и макромицетов в формировании почвенных пищевых сетей и циклов С и N зависит от правильного определения величин фракционирования изотопов углерода и азота ( $\Delta^{13}\text{C}$  и  $\Delta^{15}\text{N}$ ). Исследован изотопный состав извлеченного из почвы мицелия макромицетов разных функциональных групп (“природного мицелия”), а также качественный состав ассоциированного с мицелием сообщества микромицетов. Изотопный состав мицелия и экссудатов микромицетов, ассоциированных с “природным мицелием”, был исследован в лабораторном эксперименте. Микромицеты, принадлежащие к различным порядкам отдела *Ascomycota*, показали разные величины фракционирования стабильных изотопов углерода и азота, как при формировании мицелия, так и при выделении экссудатов. Несмотря на разнонаправленное фракционирование изотопов азота микромицетами – ассоциатами “природного мицелия”, их экссудаты сходны по изотопному составу и не образуют обогащенного тяжелыми изотопами пула легкодоступного органического вещества в почве.

*Ключевые слова:* изотопный анализ, микориза, почвенные микромицеты, сапротрофы, экссудаты

DOI: 10.31857/S0026364820020129

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема масс-независимого фракционирования стабильных изотопов широко исследуется в почвенной экологии и микологии. Отдельным вопросом, требующим детального рассмотрения, является феномен микоризно-сапротрофного расхождения (mycorrhizal-saprotrophic division, Henn et al., 2001). Неоднократно показано, что плодовые тела микоризных грибов, а также их мицелий обогащены  $^{15}\text{N}$  (Hobbie et al., 2001; Wallander et al., 2009), что связывается с передачей грибами более легкого изотопа  $^{14}\text{N}$  растению-хозяину или же с потреблением минеральных соединений азота из нижней части почвенного профиля (Taylor et al., 2007). В то же время плодовые тела сапротрофных грибов обогащены  $^{13}\text{C}$ , что обуславливается их физиологией – фракционированием  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  при ассимиляции целлюлозы (Gleixner et al., 1993). Однако показано, что на разных глубинах обитает мицелий микоризных грибов различных таксономических групп (Shubin, 1998; Rosling et al., 2003; Courty et al., 2008), а величины  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  плодовых тел и мицелия микоризных грибов, обитающих на одной глубине, сильно варьируют даже у одного вида (Högberg et al., 1996; Hobbie et al., 2003).

Предполагается наличие альтернативного механизма формирования изотопного состава мицелия макромицетов в почве. Микоризные грибы и ассоциированные с ними микромицеты находятся в тесном трофическом взаимодействии, в том числе через пул водорастворимых экзометаболитов, выделяемых с экссудатами (Taylor, 2002; Lamb et al., 2009). Почвенные микромицеты имеют развитый энзиматический аппарат (Semenova et al., 2017), а также делают устойчивое органическое вещество почвы доступным для потребления микоризными грибами (Wu et al., 2003; Kurchenko et al., 2013). Следовательно, микромицеты, обитающие в микоризосфере или гифосфере (Voronina et al., 2017), могут обогащать окружающую почву гидролитическими экзометаболитами (Eichlerová et al., 2015), и таким образом давать возможность мицелию макромицетов потреблять более простые и легкие для усвоения соединения азота и углерода. Также показано, что белковые вещества грибного происхождения, например, гломалин (Etcheverría et al., 2009) могут быть обогащены  $^{15}\text{N}$ , а микоризные грибы в условиях лесных экосистем могут потреблять как минеральные, так и органические ве-

щества в качестве основного источника азотного питания (Lilleskov et al., 2002).

Данное исследование направлено на определение качественного состава сообщества микромицетов, обитающего в гифосфере макромицетов, а также величин изотопного состава мицелия и экссудата грибов-микромицетов, ассоциированных с микоризным мицелием. Понимание особенностей фракционирования стабильных изотопов  $\Delta^{13}\text{C}$  и  $\Delta^{15}\text{N}$  в ряду “субстрат—микромицет—экссудат” позволит сформировать представление о путях потребления труднодоступного азотсодержащего органического вещества почвы мицелием микоризных и сапротрофных макромицетов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены на биогеоэкологической станции Малинки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН) в Московской обл. ( $55^{\circ}27'34.2''$  с.ш.,  $37^{\circ}10'45.8''$  в.д.). Почвы водоразделов данного района дерново-подзолистые, в лесных биоценозах выделяются формации ельника зеленомошного, мертвопокровного ельника, сосняка-кисличника (Dylis, 1971; Karpachevskii et al., 1971).

Отбор образцов был произведен в зеленомошном ельнике в октябре 2014 г. следующим образом: из почвы извлекался монолит, размерами  $10 \times 10 \times 20$  см, включавший подстилку и большую часть органогенного горизонта А ( $n = 4$ ). Точки отбора монолитов располагались на однородных участках, были равноудалены от стволов деревьев и не располагались вблизи скопления мертвого органического вещества. Вблизи точек отбора были отмечены колонии плодовых тел микоризных грибов *Russula* spp., и *Lactarius* spp., что, однако, не могло являться критерием для определения видовой принадлежности мицелия. Грибные гифы были отобраны пинцетом с поверхности почвенных агрегатов и опада по мере разборки монолита ( $n = 32$ ). Образцы мицелия были очищены от почвенных микроагрегатов и прочих видимых глазу частиц и доставлены в лабораторию.

Изотопный состав природного мицелия был использован для определения его принадлежности к различным функциональным группам — микоризообразователям или сапротрофам (Henn et al., 2001). Микоризные грибы значимо обогащены  $^{15}\text{N}$  по сравнению с сапротрофными, а гумусовые сапротрофы значимо обогащены  $^{13}\text{C}$  по сравнению с подстилочными, при этом мицелий обеднен  $^{15}\text{N}$  по сравнению с плодовыми телами (Kohzu et al., 1999; Trudell et al., 2004; Wallander et al., 2004; Tedersoo et al., 2012). Эти наблюдения согласуются с известными в настоящий момент биохимическими закономерностями, приводящими к фракционированию изотопов  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  грибными организмами. Нулевой точкой отсчета в современной

изотопной экологии принято считать изотопный состав опада. Микоризные грибы обогащены  $^{15}\text{N}$  по сравнению с опадом (Hobbie et al., 2010) вследствие потребления азотного питания из минеральных горизонтов почвы, где величина  $\delta^{15}\text{N}$  выше (Taylor et al., 2007), в то время как подстилочные сапротрофные грибы обогащены  $^{13}\text{C}$  относительно опада вследствие фракционирования при катаболизме целлюлозы (Gleixner et al., 1993). Гумусовые сапротрофы, в свою очередь, обогащены  $^{13}\text{C}$ , т.к. питаются органическим веществом почвы, и  $^{15}\text{N}$ , т.к. гумус обогащен по азоту относительно опада и гумина. Обогащение гумуса тяжелым азотом происходит при его многоступенчатом формировании с участием почвенных микроорганизмов и составляет от 5 до 10‰ по сравнению с опадом (Högberg et al., 1996). Данные зависимости прослеживаются в изотопном составе ( $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$ ) плодовых тел грибов соответствующих функциональных групп. Показанные закономерности дают нам возможность для разделения мицелия по функциональным группам на основании данных о его изотопном составе. Мицелий, классифицированный по результатам изотопного и кластерного анализа как микоризный, мицелий гумусовых или подстилочных сапротрофных грибов, впоследствии был использован для определения видового состава ассоциатов среди грибов-микромицетов.

При подготовке образцов к микробиологическому посеву споры и мицелий микроскопических грибов были десорбированы с поверхности мицелия макромицетов при помощи 10-минутного встряхивания суспензии (1 г мицелия на 100 мл стерильной водопроводной воды) на вортекшейкере Heidolph Multi Reax (Heidolph GmbH, Германия). Выделение сообществ микроскопических грибов было проведено стандартным методом посева последовательных разведений на среду Чапека с добавлением стрептомицина. Повторность определений 3-кратная для каждого образца мицелия. Разнообразие выделенных микромицетов оценивали при помощи индекса Шеннона (H), бинарное сходство сообществ микромицетов, ассоциированных с различными группами мицелия макромицетов — с помощью индекса Жаккара (Sj). Количественное сравнение видового состава и структуры сообществ было проведено при помощи многомерного непараметрического шкалирования и дискриминантного анализа, реализованного в пакете Statistica 10 (Tiunov et al., 2000).

Идентификация культур микромицетов была проведена после выделения чистых культур на среды Чапека и Сабуро с использованием современных определителей для соответствующих групп и родов грибов. Все названия приведены в соответствии с базой данных Index Fungorum (2019). Для посева в жидкую питательную среду с целью сбора экссудата были использованы участки чистых культур микромицетов, взятые сте-

рильной иглой из стерильной области. В качестве питательной среды использовалась безагарная среда Чапека. Выращивание проводилось в течение 10 суток в пластиковых пробирках емкостью 50 мл, зафиксированных на качалке, при соотношении среда-воздух 6 : 4 (Mirchink, 1976). Выращенные в жидкой среде культуры микромицетов были отделены от среды на центрифуге. Образцы стерильного мицелия микромицетов, а также питательной среды, в которой они были выращены, высушены на лиофильной сушке.

Высушенные образцы (мицелий макромицетов и культуры микромицетов, почва, опад, питательная среда) измельчали на шаровой лабораторной мельнице Retch MM200 (Retsch GmbH, Германия). Ориентировочный вес проб для изотопного анализа составлял: грибного материала 30–500 мкг; питательных сред – 200–500 мкг; опада и почвы – 1500 мкг. Образцы взвешивали на весах Mettler Toledo MX5 (Mettler Toledo, США) с точностью до 1 мкг.

Измерение изотопного состава углерода и азота ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) было проведено с использованием элементного анализатора Flash 1112 и изотопного масс-спектрометра Thermo-Finnigan Delta V Plus (Thermo Fisher Scientific, США) в Центре коллективного пользования при ИПЭЭ РАН. Изотопный состав азота и углерода выражали в тысячных долях отклонения от международного стандарта,  $\delta$  (‰). Для азота стандартом служил  $\text{N}_2$  атмосферного воздуха, для углерода – венский эквивалент белемнита PeeDee формации (PDB). Аналитическая точность определения изотопного состава (1 SD) была в пределах  $< 0.15\text{‰}$  для  $\delta^{15}\text{N}$  и  $\delta^{13}\text{C}$ . Совместно с определением изотопного состава, во всех пробах было определено общее содержание углерода и азота (%N, %C). Изотопное фракционирование ( $\Delta$ ) определяли как разницу изотопного состава микромицетов и субстрата, на котором они были выращены, изотопное обогащение субстрата после выращивания на нем грибов было вычислено по разности с исходным изотопным составом субстрата:  $\Delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_{\text{микромицет}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{субстрат}}$ ;  $\Delta^{15}\text{N} = \delta^{15}\text{N}_{\text{микромицет}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{субстрат}}$ ;  $\Delta^{13}\text{C}_{\text{обогащение субстрата}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{субстрат} + \text{экссудат}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{субстрат}}$ ;  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{обогащение субстрата}} = \delta^{15}\text{N}_{\text{субстрат} + \text{экссудат}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{субстрат}}$ .

Сравнение выборок было выполнено с помощью дисперсионного анализа (Anova), сравнение средних величин – при помощи множественного критерия Тьюки (Tukey HSD); Расчеты выполнены в программном пакете Statistica 10. Изотопный состав отдельных групп грибов и их экссудатов сравнивали с использованием стандартных эллипсов, ограничивающих область 95%-го доверительного интервала (Jackson et al., 2011). В тексте представлены средние величины  $\pm 1$  SD (стандартное отклонение).

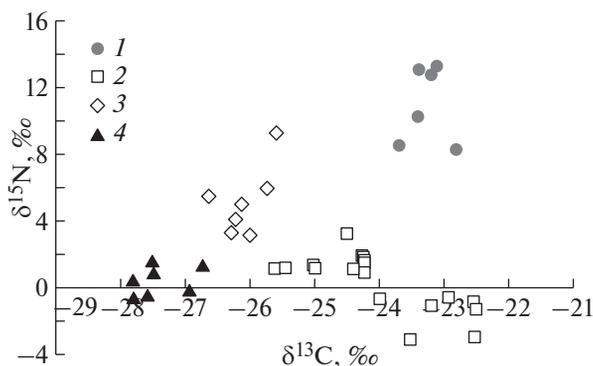


Рис. 1. Изотопный состав образцов “природного мицелия”: 1 – гумусовые сапротрофы, 2 – подстилочные сапротрофы, 3 – микоризные грибы, 4 – мицелий неясного статуса.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Изотопный состав извлеченного из почвы мицелия довольно сильно варьировал (рис. 1). Точных величин, служащих критериями для разделения мицелия на основании его изотопного состава не существует. Однако к настоящему времени накоплено большое количество данных, показывающих распределение макромицетов различных функциональных групп относительно величин их изотопного состава ( $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$ ) (Kohzu et al., 1999; Henn et al., 2001; Trudell et al., 2004; Tedersoo et al., 2012), а также данных, показывающих, что мицелий грибов различных функциональных групп обеднен относительно их плодовых тел по  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  (Wallander, 2001; Trudell et al., 2004, Tedersoo et al., 2012).

По результатам изотопного и кластерного анализа образцы мицелия были разделены на четыре группы, соответствующие микоризным грибам, гумусовым сапротрофам, подстилочным сапротрофам и мицелию неясного статуса (Henn et al., 2001; Kohzu et al., 1999). К группе микоризных грибов был отнесен мицелий грибов, обогащенный  $^{15}\text{N}$  по сравнению с опадом ( $\delta^{13}\text{C} = -27.6 \pm 0.3\text{‰}$  и  $\delta^{15}\text{N} = 0.5 \pm 0.4\text{‰}$ ) более  $3.0\text{‰}$ , но  $^{13}\text{C}$  – не более  $2.5\text{‰}$ ; к гумусовым сапротрофам – мицелий, обогащенный  $^{15}\text{N}$  более  $3.0\text{‰}$  и  $^{13}\text{C}$  – более  $3.0\text{‰}$ ; к подстилочным сапротрофам – мицелий, обогащение которого по  $^{13}\text{C}$  более чем в 2 раза выше, чем по  $^{15}\text{N}$ . Мицелий неясного статуса практически не отличался по изотопному составу от опада ( $\delta^{13}\text{C} = -27.6 \pm 0.3\text{‰}$  и  $\delta^{15}\text{N} = 0.5 \pm 0.4\text{‰}$ ).

С поверхности собранного в почве мицелия было выделено и определено 25 видов из 12 родов микромицетов (табл. 1). Доминанты (по встречаемости) были представлены представителями аскомицетов родов *Penicillium* (53.3% изолятов), *Cladosporium* (23.1%) и *Clonostachys* (12.0% изолятов). Разнообразие микромицетов в ги́фосфере было ниже у мицелия гумусовых сапротрофов ( $H = 0.89 \pm 0.2$ ) по сравнению с сообществами, ас-

**Таблица 1.** Микромицеты, выделенные с поверхности гиф макромицетов

Таксономический состав	Число штаммов
<i>Ascomycota</i>	
<i>Capnodiales</i>	
<i>Cladosporiaceae</i>	
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries*	5
<i>C. herbarum</i> (Pers.) Link*	9
<i>C. macrocarpum</i> Preuss*	2
<i>Eurotiales</i>	
<i>Aspergillaceae</i>	
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen	1
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	2
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx*	5
<i>P. chrysogenum</i> Thom*	7
<i>P. citrinum</i> Thom*	17
<i>P. implicatum</i> Biourge*	3
<i>P. janczewskii</i> K.M. Zalesky*	1
<i>P. miczynskii</i> K.M. Zalesky*	1
<i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom*	2
<i>P. viridicatum</i> Westling*	3
<i>Penicillium</i> sp. 1*	7
<i>Penicillium</i> sp. 2*	2
<i>Hypocreales</i>	
<i>Bionectriaceae</i>	
<i>Clonostachys candelabrum</i> (Bonord.) Schroers*	6
<i>Clavicipitaceae</i>	
<i>Metarhizium carneum</i> (Duché et R. Heim) Kepler	2
<i>Cordycipitaceae</i>	
<i>Akanthomyces muscarius</i> (Petch) Spatafora	1
<i>Hypocreaceae</i>	
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	3
<i>Pleosporales</i>	
<i>Pleosporaceae</i>	
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	1
<i>Trichocomaceae</i>	
<i>Talaromyces variabilis</i> (Sopp) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert	2
<i>Incertae sedis</i>	
<i>Pseudeurotiaceae</i>	
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis et D.L. Lindner	2
<i>Basidiomycota</i>	
<i>Cystofilobasidiales</i>	
<i>Cystofilobasidiaceae</i>	
<i>Cystofilobasidium macerans</i> Samp.	3
<i>Mucoromycota</i>	
<i>Mucorales</i>	
<i>Cunninghamellaceae</i>	
<i>Absidia</i> sp.	1
<i>Mortierellaceae</i>	
<i>Mortierella</i> sp.	3

\*Представители доминантных (по встречаемости) родов.

соцированными с мицелием микоризных грибов и мицелием неясного статуса ( $H = 1.4 \pm 0.1$  и  $1.12 \pm 0.5$  соответственно) и подстилочных сапротрофов ( $H = 1.15 \pm 0.4$ ).

Бинарные коэффициенты видовой общности Жаккара показали большую схожесть видового состава макромицетов, ассоциированных с мицелием микоризных грибов и подстилочных сапротрофов ( $S_j = 0.22$  и  $0.30$ ). Мицелий гумусовых сапротрофов достоверно (NMDS–DFA,  $p < 0.05$ ) отличался по видовому составу ассоциированных макромицетов от прочих экологических групп (рис. 2).

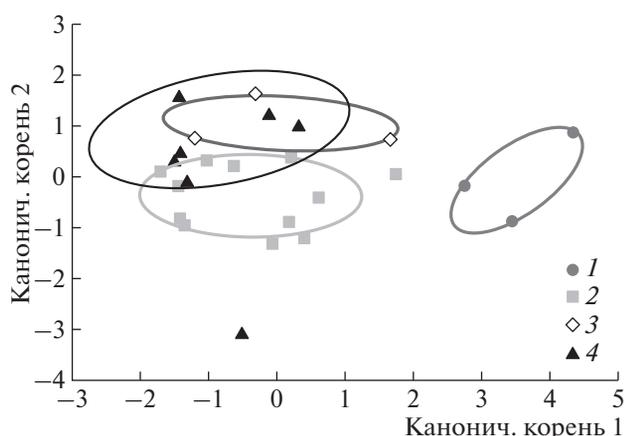
Основными видами, вносящими вклад в сходство или различие сообществ ассоциатов, были *Penicillium citrinum*, преобладающий у гумусовых сапротрофов, и *Clonostachys candelabrum*, преобладающий у прочих групп. Величины КОЕ доминантных (по встречаемости) макромицетов колебались в широких пределах: от  $14 \pm 9$  (SD) до  $182 \pm 57$  тыс. на 1 г воздушно-сухого мицелия макромицетов. Достоверных различий в численности КОЕ макромицетов между различными функциональными группами макромицетов не выявлено. Для родов макромицетов с наиболее представленным видовым обилием (*Penicillium*, *Cladosporium* и *Clonostachys*) был проанализирован изотопный состав стерильного мицелия и экссудатов в лабораторной культуре, и рассчитаны величины изотопного фракционирования между парами “субстрат–макромицет” и “макромицет–экссудат” соответственно (табл. 2).

Стерильный мицелий был обеднен тяжелыми изотопами углерода и азота относительно субстрата. Субстрат после культивации на нем макромицетов был также обеднен  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  (величины обогащения отрицательные). Величины  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  мицелия макромицетов различных родов значимо (ANOVA,  $p < 0.001$ ) различались (рис. 3).

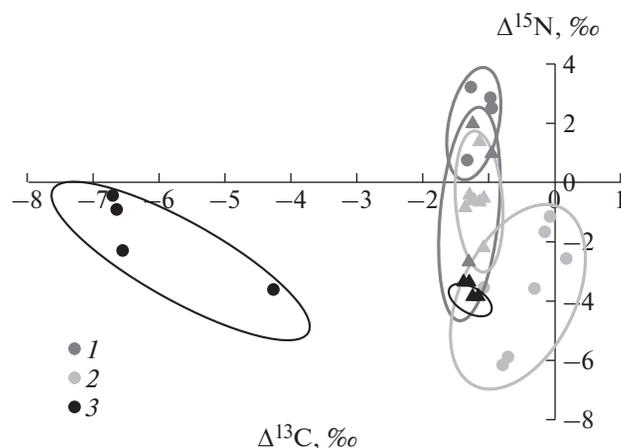
Мицелий макромицетов рода *Clonostachys* был обеднен  $^{13}\text{C}$  по сравнению с *Cladosporium* и *Penicillium*, а также субстратом. Величины  $\delta^{13}\text{C}$  экссудатов макромицетов не различались, однако экссудаты *Clonostachys* были значимо обеднены  $^{15}\text{N}$  по сравнению с экссудатами *Cladosporium* и *Penicillium* (HSD,  $p < 0.05$ ).

Распределение изотопного состава природного мицелия было схоже с величинами, описанными ранее в литературе (Wallander et al., 2001; Boström et al., 2008). Наряду с известными закономерностями биохимического фракционирования  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ , это дает основания для разделения микоризного и сапротрофного мицелия разных типов по значению полученных величин изотопного анализа.

Ранее было показано, что видовое разнообразие почвенных макромицетов может сокращаться в условиях ассоциированности с мицелием макромицетов, по сравнению с окружающей почвой, в частности, из-за присутствия в гифосфере оксалата (Aleksandrova et al., 2005; Sidorova et al., 2017),



**Рис. 2.** План дискриминантного анализа сообществ микромицетов, ассоциированных с мицелием различных экологических групп макромицетов: 1 – гумусовые сапротрофы, 2 – подстилочные сапротрофы, 3 – микоризные грибы, 4 – мицелий неясного статуса. Эллипсами обозначены области достоверных значений при  $p = 0.95$ .



**Рис. 3.** Величины изотопного обогащения субстрата экссудатом (треугольники) и изотопного состава мицелия (кружки) микромицетов, нормированные на субстрат: 1 – *Cladosporium*, 2 – *Penicillium*, 3 – *Clonostachys*.

а структура сообщества почвенных микромицетов – изменяться (Vogonina, 2011). Выявленные доминанты в структуре сообщества микромицетов частично согласуются с литературными данными. Представители рода *Penicillium* были выделены в качестве доминантов сообщества в ги́фосфере макромицетов (Vogonina, 2011).

Различия в величинах изотопного фракционирования  $\Delta^{13}\text{C}$  и  $\Delta^{15}\text{N}$  группами почвенных макромицетов, по-видимому, являются следствием различных путей потребления труднорастворимого органического субстрата почвы (Burova, 1986; Zvyagintsev, 1987). Полученные данные позволяют предположить, что степень изотопного фракционирования  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  относительно субстрата разными видами микромицетов может являться таксономически обусловленным признаком, по аналогии с тем, что было показано ранее для микоризных грибов (Hobbie et al., 2010). Таким образом, можно предположить, что проявление разной интенсивности обогащения мицелия  $^{15}\text{N}$  является следствием физиологически различных путей освоения одного и того же субстрата.

Низкие значения  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  мицелия и экссудатов микромицетов по сравнению с субстратом

могут быть связаны, в первую очередь, с перераспределением изотопов внутри грибных организмов и переходом тяжелых изотопов углерода и азота в споры. Относительно небольшие отличия мицелия микромицетов от субстрата по величине  $\delta^{15}\text{N}$ , скорее всего, связаны с условиями культивирования в лабораторных условиях в условиях избытка питательного субстрата и сопоставимы с данными предыдущих исследований (Scheu et al., 2004; Potapov et al., 2013). Величины фракционирования стабильных изотопов при образовании экссудата предполагают, что выделения микромицетов не способствуют формированию в почве пула легкодоступного органического вещества, обогащенного тяжелыми изотопами углерода и азота. Таким образом, высокие значения  $\delta^{15}\text{N}$  в мицелии и плодовых телах микоризных грибов скорее связаны с возможностью потребления азотного питания с более глубоких горизонтов почвы (Shubin, 1998) а не с потреблением переработанного органоминерального субстрата. Связь изотопного состава  $\delta^{13}\text{C}$  и  $\delta^{15}\text{N}$  сапротрофных макромицетов с деятельностью ассоциированных микромицетов также не выявлена.

**Таблица 2.** Величины изотопного фракционирования ( $\Delta^{13}\text{C}$  и  $\Delta^{15}\text{N}$ , ‰) доминантных родов микромицетов, ассоциированных с мицелием макромицетов

Роды микромицетов	Встречаемость (n)	$\Delta$ субстрат – микромицет				$\Delta$ микромицет – обогащение субстрата			
		$^{13}\text{C}$	SD	$^{15}\text{N}$	SD	$^{13}\text{C}$	SD	$^{15}\text{N}$	SD
<i>Cladosporium</i>	8	-1.1a	0.2	2.3a	1.1	-1.2	0.2	-0.8a	2.1
<i>Penicillium</i>	16	-0.5a	0.5	-3.5b	1.8	-1.2	0.6	-0.5a	2.0
<i>Clonostachys</i>	4	-6.0b	1.2	-1.8b	1.4	-1.3	1.1	-3.5b	1.2

Примечание. Разные буквы в пределах столбца указывают на достоверную разницу (HSD,  $p < 0.05$ ).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проекта РФФИ “Роль почвенных микроорганизмов и беспозвоночных в деструкции стойких искусственных полимеров в различных климатических зонах” (№ 18-29-05076).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aleksandrova A.V., Velikanov L.L., Bubnova E.N., Voronina E.Yu., Sidorova I.I.* Influence of symbiotrophic basidiomycetes mycelium on taxonomic structure of soil micromycetes communities. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2005. V. 39 (1). P. 17–28 (in Russ.).
- Boström B., Compstedt D., Ekblad A.* Can isotopic fractionation during respiration explain the C-13-enriched sporocarps of ectomycorrhizal and saprotrophic fungi? *New Phytol.* 2008. V. 177. P. 1012–1019. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02332.x>
- Burova L.G.* Ecology of macromycetes. Moscow, Nauka, 1986 (in Russ.).
- Courty P.E., Buée M., Diedhiou A.G., Frey-Klett P., Le Tacon F., Rineau F., Turpault M.P., Uroz S., Garbaye J.* The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: new perspectives and emerging concepts. *Soil Biol. Biochem.* 2010. V. 42. P. 679–698. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.12.006>
- Dylis N.V.* Current state of biogeocenological research in the USSR. *Byulleten MOIP. Otdel biologicheskii*. 1971. V. 76. P. 93–103 (in Russ.).
- Eichlerová I., Homolka L., Žifčáková L., Lisá L., Dobiášová P., Baldrian P.* Enzymatic systems involved in decomposition reflects the ecology and taxonomy of saprotrophic fungi. *Fun. Ecol.* 2015. V. 13. P. 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.08.002>
- Etcheverria P., Huygens D., Godoy R., Borie F., Boeckx P.* Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N enrichment of soil organic matter in forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 2009. V. 41. P. 858–861. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.01.018>
- Gleixner G., Danier H.J., Werner R.A., Schmidt H.L.* Correlations between the <sup>13</sup>C content of primary and secondary plant products in different cell compartments and that in decomposing basidiomycetes. *Plant Physiol.* 1993. V. 102. P. 1287–1290. <https://doi.org/10.1104/pp.102.4.1287>
- Henn M.R., Chapela I.H.* Ecophysiology of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N isotopic fractionation in forest fungi and the roots of the saprotrophic-mycorrhizal divide. *Oecologia*. 2001. V. 128. P. 480–487. <https://doi.org/10.1007/s004420100680>
- Hobbie E.A., Colpaert J.V.* Nitrogen availability and colonization by mycorrhizal fungi correlate with nitrogen isotope patterns in plants. *New Phytol.* 2003. V. 157. P. 115–126. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00657.x>
- Hobbie E.A., Weber N.S., Trappe J.M.* Mycorrhizal vs saprotrophic status of fungi: the isotopic evidence. *New Phytol.* 2001. V. 150. P. 601–610. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00134.x>
- Hobbie E.A., Agerer R.* Nitrogen isotopes in ectomycorrhizal sporocarps correspond to belowground exploration types. *Plant and Soil*. 2010. V. 327 (1–2). P. 71–83. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0032-z>
- Högberg P., Högberg L., Schinkel H., Högberg M., Johannisson C., Wallmark H.* <sup>15</sup>N abundance of surface soils, roots and mycorrhizas in profiles of European forest soils. *Oecologia*. 1996. V. 108. P. 207–214. <https://doi.org/10.1007/BF00334643>
- Index Fungorum.* A nomenclatural database. 2019. <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>. Accessed 12.01.2019.
- Jackson A.L., Inger R., Parnell A.C., Bearhop S.* Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *J. Anim. Ecol.* 2011. V. 80. P. 595–602. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x>
- Karpachevskii L.O., Kiseleva N.K., Leonova T.G., Popova S.I.* Diversity of soil cover and its relation to the parcel structure of biogeocenosis. In: *Biogeotsenologicheskie issledovaniya v shirokolistvenno-elovykh lesakh*. Nauka, Moscow, 1971, pp. 151–224 (in Russ.).
- Kohzu A., Yoshioka T., Ando T., Takahashi M., Koba K., Wada E.* Natural <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N abundance of field-collected fungi and their ecological implications. *New Phytol.* 1999. V. 144. P. 323–330. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00508.x>
- Kurchenko I.N., Vasilevskaya A.I., Artyshkova L.V., Nakonechnaya L.T., Yur'eva E.M.* Use of different carbon sources by soil and endophytic strains of *Penicillium funiculosum* Thom. *Mikrobiologicheskii zhurnal*. 2013. V. 75. P. 12–23 (in Russ.).
- Lamb E.G., Kembel S.W., Cahill J.F.* Shoot, but not root, competition reduces community diversity in experimental mesocosms. *J. Ecol.* 2009. V. 97. P. 155–163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01454.x>
- Lilleskov E.A., Hobbie E.A., Fahey T.J.* Ectomycorrhizal fungal taxa differing in response to nitrogen deposition also differ in pure culture organic nitrogen use and natural abundance of nitrogen isotopes. *New Phytol.* 2002. V. 154. P. 219–231. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00367.x>
- Mirchink T.G.* Soil mycology. Moscow, MSU, 1976 (in Russ.).
- Potapov A.M., Semenina E.E., Kurakov A.V., Tiunov A.V.* Large <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C and small <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N isotope fractionation in an experimental detrital foodweb (litter – fungi – collembolans). *Ecol. Res.* 2013. V. 28. P. 1069–1079. <https://doi.org/10.1007/s11284-013-1088-z>
- Rosling A., Landeweert R., Lindahl B.D., Larsson K.H., Kuyper T.W., Taylor A.F.S., Finlay R.D.* Vertical distribution of ectomycorrhizal fungal taxa in a podzol soil profile. *New Phytol.* 2003. V. 159. P. 775–783. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00829.x>
- Scheu S., Folger M.* Single and mixed diets in *Collembola*: effects on reproduction and stable isotope fractionation. *Functional Ecol.* 2004. V. 18 (1). P. 94–102. <https://doi.org/10.1046/j.0269-8463.2004.00807.x>
- Semenova T.A., Dunaevsky Y.E., Beljakova G.A., Borisov B.A., Shamraichuk I.L., Belozersky M.A.* Extracellular peptidases as possible markers of fungal ecology. *Appl. Soil Ecol.* 2017. V. 113. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.002>
- Shubin V.I.* Ecological niches and successions of macromycetes symbiotrophs in forest ecosystems of taiga zone. I. Ecological niches. *Mikologiya i fitopatologiya*. 1998. V. 32. P. 32–37 (in Russ.).
- Sidorova I.I., Aleksandrova A.V., Voronina E.Yu.* Hyposphere of agaricomycetes with different trophic strategies: quantity of cultivated bacteria and micromycetes. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2017. V. 51 (2). P. 78–89 (in Russ.).
- Taylor A.F.S.* Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: sampling effort and species detection. Diversity and integration in mycorrhizas. Dordrecht: Springer, 2002.

- P. 19–28.  
[https://doi.org/10.1007/978-94-017-1284-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-017-1284-2_3)
- Taylor A.F.S., Fransson P.M. Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  in saprotrophic fungi: what can they tell us? In: Gadd G.M., Watkinson S.C., Dyer P. (eds.) *Fungi in the environment*. Cambridge University Press, Cambridge, 2007, pp. 141–157.
- Tedersoo L., Naadel T., Bahram M., Buegger F., Leal M., Kõljalg U., Põldmaa K. Enzymatic activities and stable isotope patterns of ectomycorrhizal fungi in relation to phylogeny and exploration types in an afro-tropical rain forest. *New Phytol.* 2012. V. 195. P. 832–843.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04217.x>
- Tiunov A.V., Scheu S. Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (*Lumbricidae*): a laboratory experiment. *Appl. Soil Ecol.* 2000. V. 14. P. 17–26.  
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00050-5](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00050-5)
- Trudell S.A., Rygielwicz P.T., Edmonds R.L. Nitrogen and carbon stable isotope abundances support the myco-heterotrophic nature and host-specificity of certain achlorophyllous plants. *New Phytol.* 2004. V. P. 391–401.  
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00876.x>
- Voronina E.Yu. Effect of the mycorrhizosphere on soil microcete biodiversity and community structure and its relation to the rhizosphere and hyphosphere effects. *Microbiology.* 2011. V. 80. P. 584–590.  
<https://doi.org/10.1134/S0026261711040217>
- Voronina E., Sidorova I. Rhizosphere, mycorrhizosphere and hyphosphere as unique niches for soil-inhabiting bacteria and micromycetes. In: Singh H.B., Sarma B.K., Keswani C. (eds.) *Advances in PGPR research*, CAB International, 2017, pp. 165–186.  
<https://doi.org/10.1079/9781786390325.0165>
- Wallander H., Mörth C.M., Giesler R. Increasing abundance of soil fungi is a driver for  $^{15}\text{N}$  enrichment in soil profiles along a chronosequence undergoing isostatic rebound in northern Sweden. *Oecologia.* 2009. V. 160. P. 87–96.  
<https://doi.org/10.1007/s00442-008-1270-0>
- Wallander H., Nilsson L.O., Hagerberg D., Baath E. Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field. *New Phytol.* 2001. V. 151. P. 753–760.  
<https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.00199.x>
- Wu T., Sharda J.N., Koide R.T. Exploring interactions between saprotrophic microbes and ectomycorrhizal fungi using a protein – tannin complex as an N source by red pine (*Pinus resinosa*). *New Phytol.* 2003. V. 159. P. 131–139.  
<https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2003.00800.x>
- Zvyagintsev D.G. *Pochva i mikroorganizmy*. Moscow, MSU, 1987 (in Russ.).
- Александрова А.В., Великанов Л.Л., Бубнова Е.Н., Воронина Е.Ю., Сидорова И.И. (Aleksandrova et al.) Влияние микелия симбиотрофных базидиомицетов на таксономическую структуру сообществ почвенных микромицетов // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. № 6. С. 17–28.
- Бурова Л.Г. (Burova) Экология грибов макромицетов. М.: Рипол Классик, 1986. 223 с.
- Дылис Н.В. (Dylis) Современное состояние биогеоэкологических исследований в СССР // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1971. Т. 76. № 3. С. 93–103.
- Звягинцев Д.Г. (Zvyagintsev) Почва и микроорганизмы. М.: МГУ, 1987. 256 с.
- Карпачевский Л.О., Киселева Н.К., Леонова Т.Г., Попова С.И. (Karpachevskii et al.) Пестрота почвенного покрова и ее связь с парцеллярной структурой биогеоценоза. Биогеоэкологические исследования в широколиственно-еловых лесах. М.: Наука, 1971. С. 151–224.
- Курченко И.Н., Василевская А.И., Артышкова Л.В., Наконечная Л.Т., Юрьева Е.М. (Kurchenko et al.) Использование различных источников углерода почвенными и эндофитными штаммами *Penicillium funiculosum* Thom. // Микробиологический журнал. 2013. Т. 75. № 3. С. 12–23.
- Мирчинк Т.Г. (Mirchink) Почвенная микология. М.: МГУ, 1976. 206 с.
- Сидорова И.И., Александрова А.В., Воронина Е.Ю. (Sidorova et al.) Микробиота гифосферы агарикомицетов с разным трофическим статусом: численность культивируемых бактерий и микромицетов // Микология и фитопатология. 2017. Т. 51. № 2. С. 78–89.
- Шубин В.И. (Shubin) Экологические ниши и сукцессии макромицетов-симбиотрофов в лесных экосистемах таежной зоны. I. Экологические ниши // Микология и фитопатология. 1998. Т. 32. № 6. С. 32–37.

## Micromycetes in the Hyphosphere: Stable Isotopes ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) Fractionation and the Community Structure

A. G. Zuev<sup>#</sup>

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: agzuev.sevin@gmail.com*

Saprotrophic micromycetes play a vital role in soil foodwebs both directly and via the influence on host plant and higher fungal mycelium growth. Mobilizing nitrogen of stable soil organic matter, that is common for boreal soils, micromycetes provide its faster involve in biological cycles. Successful use of stable isotope analysis for the role of both micro- and macromycetes in soil foodwebs, soil forming and biological cycles detailed understanding is strongly bonded with the correct determination of stable isotopes fractionation ( $\Delta^{13}\text{C}$  and  $\Delta^{15}\text{N}$ ). We studied the isotopic composition ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of fungal mycelium of different ecology as well as the qualitative composition of soil micromycetes in its hyphosphere. The isotopic composition ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of micromycete mycelium and exudates was researched in a laboratory experiment. Micromycetes of different phylogeny showed different values of isotopic fractionation both in mycelium and exudates. Despite multidirectional  $^{15}\text{N}$  fractionation by associated microfungi, their exudates were similar in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values and are not shown to form a heavy isotope enriched pool of procurable soil organic matter.

*Keywords:* exudates, mycorrhiza, saprotrophic fungi, soil micromycetes, stable isotopes