

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Высшего профессионального образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»

Факультет почвоведения

На правах рукописи

ЗАГРЯДСКАЯ ЮЛИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

Влияние базидиальных грибов лесных биотопов на почвенные бактериальные
сообщества

03.02.03 – микробиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент

Л.В. Лысак

Москва, 2014 год

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
Обзор литературы	
1. Роль мицелиальных грибов в формировании микробных сообществ почвы.....	11
2. Бактериальные экологические ниши, формируемые мицелиальными грибами	
2.1. Бактериальные сообщества и взаимодействие бактерий и мицелиальных грибов в гифосфере.....	15
2.2. Бактериальные сообщества и взаимодействие бактерий и грибов в микоризосфере	
2.2.1. Современные представления о микоризосфере....	22
2.2.2. Влияние мицелиальных грибов на бактериальные сообщества микоризосферы	26
2.2.3. Влияние бактерий на формирование микоризы ...	31
2.3. Бактериальные сообщества плодовых тел напочвенных базидиальных грибов	34
Объекты и методы исследования	
Объекты исследования.....	37
Методы исследования.....	47
Результаты и обсуждение	
1. Сравнительная характеристика бактериальных сообществ гифосферы исследованных видов базидиомицетов	
1.1. Определение общей численности бактерий прямым микроскопическим методом.....	51
1.2. Определение общей численности и потенциальной жизнеспособности бактерий прямым микроскопическим методом	57

1.3. Численность сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов.....	60
1.4. Характеристика таксономической структуры сапротрофных бактериальных комплексов в гифосфере базидиомицетов.....	66
1.5. Анализ сходства сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы на основании расчета количественного модифицированного коэффициента Серенсена.....	79
1.6. Изучение таксономического состава бактерий гифосферы методом fluorescence in situ hybridisation (FISH)...	81
2. Сравнительная характеристика бактериальных комплексов микоризосферы исследованных видов базидиомицетов	
2.1. Численность и таксономический состав сапротрофного бактериального комплекса микоризосферы.....	84
2.2. Изучение сходства сапротрофных бактериальных комплексов микоризосферы и гифосферы базидиомицетов- симбиотрофов методом кластерного анализа.....	88
3. Сравнительная характеристика бактериальных комплексов плодовых тел и гифосферы базидиомицетов	
3.1. Общая численность бактерий в плодовых телах базидиомицетов.....	91
3.2. Численность сапротрофных бактерий в плодовых телах базидиомицетов.....	92
3.3. Структура сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов.....	93
4. Характеристика бактериальных комплексов плодовых тел базидиомицетов на разных стадиях развития и разложения.....	97

5. Сравнительный анализ структуры сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы, микоризосферы и плодовых тел исследованных базидиомицетов.....	105
6. Изучение адгезии бактерий на гифах базидиомицетов.....	109
Заключение.....	112
Выводы.....	114
Список литературы.....	116
Приложения.....	134

ВВЕДЕНИЕ

Грибы являются важным компонентом всех наземных и большинства водных экосистем и выполняют в них самые разнообразные экологические функции. Биомасса грибов (макро- и микромицетов) в лесных экосистемах занимает второе место после биомассы растений и доминирует в почве и подстилке в течение значительной части вегетационного периода (Velikanov, 1989).

В лесном биогеоценозе макромицеты, представленные в основном базидиомицетами с заметными плодовыми телами, формируют разнообразные местообитания для бактерий. Пронизывая своими гифами подстилку и верхний почвенный горизонт, образуя на поверхности корней растений эктомикоризу, а на поверхности почвы плодовые тела, они оказывают существенное влияние на почвенное бактериальное сообщество и вступают в разнообразные взаимоотношения с почвенными микроорганизмами.

Еще в прошлом веке для характеристики почвенных локусов, формируемых базидиомицетами, были предложены термины «гифосфера» и «микоризосфера» (Thornton, 1953; Curl, Truelove, 1986; Великанов, Сидорова, 1997, 1998), активное изучение которых продолжается и в настоящее время (Rangel-Castro et al., 2002; De Boer et al., 2005; Frey-Klett, Garbaye, 2005; Воронина, 2009).

Под гифосферой большинство исследователей понимают почвенный локус, образованный свободным мицелием макромицетов (Thornton, 1953; Великанов, Сидорова, 1983; De Boer et al., 2005; Timonen, Marschner, 2005; Сидорова и др., 2009), а под микоризосферой – локус вокруг микоризованного окончания корня растения (Thornton, 1953; Fillion et al., 1999; Timonen and Marschner, 2005; Frey-Klett et al., 2007; Nazir et al., 2010).

Совместное существование бактерий, грибов и корней растений определяет их сложное взаимодействие друг с другом. Из сравнительно немногочисленных исследований известно, что в гифосфере и микоризосфере разных видов грибов происходит отбор определенных видов бактерий (Johansson et al., 2004; de Boer et

al., 2005; Izumi et al., 2006; Voersma et al., 2008; Warmink, van Elsas, 2008; Warmink et al., 2009). Следует отметить, что подобные исследования проводились, главным образом, для объектов, имеющих биотехнологическое значение (микоризообразователи, патогенные грибы и сапротрофы, формирующие съедобные плодовые тела) в искусственно созданных системах, микрокосмах, с использованием штаммов бактерий с заранее известными свойствами, что не позволяет экстраполировать полученные данные на природные условия (De Boer et al., 2005; Tsukamoto et al., 2002).

Еще одним важным локусом для развития бактерий, связанным с базидиомицетами в лесном биоценозе, являются плодовые тела, образуемые базидиомицетами на поверхности почвы. Исследования бактерий, развивающихся в плодовых телах базидиомицетов, также ограничиваются изучением объектов, имеющих биотехнологическое значение (De Boer et al., 2005), хотя важность изучения их в природных условиях несомненна.

Работы, в которых проводилось определение численности, видового состава, распределения различных групп бактерий в почвенных локусах, связанных с развитием макромицетов в природных условиях крайне малочисленны и фрагментарны (Katznelson et al., 1962; Garbaye, 1994; Timonen et al., 1998; Воронина, 2007). Специфика бактериальных сообществ, причины и механизмы отбора бактерий в этих локусах остаются все еще малоизученными (de Boer et al, 2005; Warmink, van Elsas, 2008; Sharma et al, 2008; Warmink et al, 2009; Nazir et al, 2010; Kluber et al, 2011).

Результаты изучения бактериальных сообществ в почвенных локусах, образованных базидиомицетами в природных биотопах, могут быть использованы для усовершенствования техники микоризации древесных растений, биологического контроля микоризной инфекции, для улучшения методов культивирования грибов, а также направленного поиска бактерий – объектов биотехнологии

Современное состояние изученности влияния базидиальных грибов (базидиомицетов) лесных биотопов на почвенные бактериальные сообщества и определяет актуальность данного исследования.

Целью настоящей работы было изучение влияния базидиальных макромицетов на почвенные бактериальные комплексы в лесных биоценозах.

Задачи исследования:

- Определение общей численности, потенциальной жизнеспособности бактерий в гифосфере, микоризосфере и плодовых телах базидиомицетов прямым микроскопическим методом;
- Определение численности и таксономической структуры бактериальных комплексов исследуемых местообитаний при помощи метода посева и метода FISH (fluorescence in situ hybridisation);
- Сравнительная характеристика бактериальных сообществ гифосферы, микоризосферы, плодовых тел базидиомицетов и контрольной почвы с помощью методов математической статистики (метод главных компонент, кластерный анализ);
- Изучение динамики бактериального комплекса в процессе разложения плодовых тел базидиомицетов;
- Исследование адгезии бактерий на гифах базидиомицетов в модельном опыте (*in vitro*).

Научная новизна

Впервые проведено исследование бактериальных комплексов гифосферы и микоризосферы 34 видов базидиомицетов, принадлежащих к 19 семействам, трем морфологическим и эколого-трофическим группам. Показано, что общая численность бактерий в гифосфере афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов выше, чем в контрольной почве. В гифосфере агарикоидных базидиомицетов эти показатели ниже, чем в контроле. Выявлено значительное сходство сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов (кластерный анализ и метод

главных компонент). Показано значительное отличие бактериальных комплексов микоризосферы от гифосферы и контрольной почвы.

Установлено, что общая численность бактерий и численность сапротрофных бактерий в плодовых телах *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus*, разлагающихся с помощью личинок мицетофилид и в процессе автолиза соответственно, достигает примерно одинаковых значений и составляет около 10^9 клеток/г, что приводит к поступлению значительных количеств бактерий в почву. Показано, что структура сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов зависит от способа их разложения и характеризуется доминированием бактерий родов *Aeromonas* и *Vibrio* (плодовые тела *Armillaria mellea*) и бактерий рода *Pseudomonas* (плодовые тела *Coprinus comatus*).

Практическая значимость

Проведенное исследование бактериальных сообществ гифосферы, микоризосферы и плодовых тел базидиомицетов в природных условиях в лесном биоценозе имеет большое значение для понимания биоценологических связей между прокариотами и эукариотами в этих почвенных локусах.

Полученные в работе сведения о структуре бактериальных сообществ могут быть использованы для усовершенствования техники микоризации древесных растений, биологического контроля микоризной инфекции, для улучшения методов культивирования грибов и направленного поиска бактерий – важных объектов биотехнологии.

Коллекция бактерий рода *Pseudomonas*, сформированная в процессе работы, может быть использована в биотехнологии для направленного поиска бактерий, а также в учебных целях.

Данные по определению показателей общей численности бактерий и структуры сапротрофного бактериального комплекса гифосферы и микоризосферы следует учитывать при балансовых расчетах бактериальной биомассы в лесных биогеоценозах и принимать во внимание при отборе почвенных образцов для микробиологических исследований.

Результаты проведенного исследования используются при чтении лекций по курсам «Биология почв», «Общая экология» и «Экология бактерий», читаемых на факультете почвоведения.

Публикации

По результатам исследования опубликовано 12 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертационных работ.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на международных конференциях: XVIII, XIX, XX Международная конференция студентов и аспирантов «Ломоносов» (Москва, 2011, 2012, 2013), XVI, XVII Международная экологическая студенческая конференция «Экология России и сопредельных территорий» (Новосибирск, 2011, 2012), 17-я Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА» (Пушино, 2013), Международная конференция «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация» (Пушино, 2013), а также на VI съезде общества почвоведов им. В.В. Докучаева «Почвы России: современное состояние, перспективы изучения и использования» (Петрозаводск, 2012), 3-ем Съезде микологов России (Москва, 2012).

Объем и структура работы

Диссертация включает введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, изложение результатов экспериментов и их обсуждение, заключение, выводы, список литературных источников и приложение. Работа изложена на 148 страницах текста, иллюстрирована 34 рисунками, содержит 17 таблиц. Список литературы состоит из 165 наименований.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 10-04-00955, 13-04-00468А.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность научному руководителю д.б.н. Л.В. Лысак. Автор благодарит к.б.н. Е.В. Лапыгину за помощь в освоении метода

люминесцентно-микроскопического исследования; д.б.н. Н.А. Манучаровой за помощь в освоении метода FISH; д.б.н. И.И. Сидорову и д.б.н. А.В. Александрову за практическую помощь, ценные советы и рекомендации на всех этапах выполнения работы.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. РОЛЬ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В ФОРМИРОВАНИИ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВЫ

Растения являются главными средообразующими организмами в природных экосистемах. Не оспаривая это мнение, следует отметить значительное влияние организмов гетеротрофного блока, особенно грибов, составляющих значительную долю микробной биомассы в почве, на формирование структуры микробных, в том числе прокариотных, сообществ почвы. Однако в литературе о влиянии грибов на почвенное бактериальное сообщество известно значительно меньше, чем о влиянии растений (Великанов, Сидорова, 2001; Полянская и др., 2012; Wallander et al., 2001).

Известно, что грибы являются обязательным блоком всех наземных и большинства водных экосистем и выполняют в них самые разнообразные функции. В почве и подстилке лесных экосистем суммарная биомасса мицелия грибов занимает второе место после биомассы растений и колеблется от 1,5 до 6-7 т на 1 га (Полянская и др., 1995; Великанов, Сидорова, 1998), что сопоставимо с биомассой корней растений – около 40 т/га (Дылис, 1978). Мицелий агарикоидных базидиомицетов (АБ) по биомассе доминирует в почвах лесных экосистем в течение значительной части вегетационного периода (Velikanov, 1989) и сосредоточен преимущественно на глубине 1-15 см (Wallander et al., 2001).

Суммарная биомасса грибов в верхних горизонтах почвах значительно превышает биомассу бактерий, особенно это характерно для лесных подстилок (Полянская и др., 2012). Причиной доминирования грибов в почве в первую очередь является их способность разлагать высокополимерные субстраты лигноцеллюлозного комплекса, мицелиальная организация также дает грибам целый ряд преимуществ (Звягинцев и др., 1999). Так, грибной мицелий обладает на 1-2 порядка большей линейной скоростью роста (50-1000 мкм/ч) по сравнению с бактериями (1-10 мкм/ч), и поэтому более эффективно колонизирует

поступающий в почву органический субстрат. Легкорастворимые вещества, вносимые в почву, потребляются в первую очередь грибами, о чем свидетельствует вспышка роста мицелия в первые сутки после обогащения почвы глюкозой, тогда как бактерии развиваются лишь спустя 12-18 дней на продуктах грибного ресинтеза (Полянская, 1986).

Мицелий грибов в почве в большинстве случаев существуют не изолированно, а в ассоциации с другими микроорганизмами. Между грибами и другими членами микробоценоза в почве складываются разнообразные связи как трофические (пищевые), так и метабиотические (посредством продуктов обмена веществ, выделяемых во внешнюю среду). Разнообразные связи существуют у грибов с высшими растениями, животными и другими микроорганизмами (Мирчинк, 1988).

Являясь организмами очень активными в биохимическом отношении, грибы создают вокруг себя среду, насыщенную продуктами обмена, что и привлекает туда других микроорганизмов (Добровольская, 2002). Установлено, что мицелий грибов в процессе жизнедеятельности выделяет главным образом органические кислоты, в значительно меньшей степени – аминокислоты, белки, пептиды, мочевины, моносахариды, трегалозу, глицерин, витамины. Органические кислоты, выделяемые грибами способны разрушать почвенные минералы, что приводит к высвобождению из них фосфора и серы (Мирчинк, 1988; Balogh-Brunstad, 2008).

Заселение поверхности грибных гиф бактериями и актиномицетами можно наблюдать на стеклах обрастания. На этот факт впервые обратил внимание Н. Г. Холодный (1935). На стеклах обрастания сначала появляются грибные гифы, затем на их поверхности поселяются бактерии, которые располагаются в виде небольших агрегатов или покрывающих гифу слоев клеток, иногда образующих мощные чехлы. Анализ микробных пейзажей почв разных типов, полученных на основании просмотра капиллярных педоскопов, заложенных в почву, также свидетельствует о роли грибов как организмов-средообразователей по отношению к бактериям (Перфильев, Габе, 1961).

Грибной мицелий способствует формированию специфических экологических ниш для бактерий, таких как гифосфера, микоризосфера и плодовые тела, развивающиеся на поверхности почвы. Для характеристики локусов, формирующихся около грибных гиф в почве, в настоящее время используют следующие термины:

- Гифосфера – микрizona, тесно связанная с поверхностью свободных гиф грибов в почве, где взаимодействия грибов и бактерий проявляются особенно ярко (Thornton, 1953; Великанов, Сидорова, 1983; De Boer et al., 2005; Сидорова и др., 2009; Timonen, 2005).

- Микосфера – узкая почвенная зона, которая сильно подвергается действию грибных гиф (Frey et al., 1997; Johansson et al., 2004; De Boer et al., 2005; Frey-Klett et al., 2005).

- Микоризосфера – почвенная микрizona, формирующаяся вокруг микоризированных корней растений и оказывающая влияние на окружающую почвенную микробиоту (Thornton, 1953; Nazir et al., 2010; Filion et al., 1999; Frey-Klett et al., 2007; Timonen, 2005).

Некоторыми авторами микоризосфера не выделяется как особая зона и отождествляется с микосферой (Finlay, 2005). Термин микосфера некоторыми авторами используется как синоним гифосферы (Andrade et al., 1998; Varea et al., 2005; Warmink et al., 2008) по аналогии с давно известным и широко используемым в микробиологии термином ризосфера (Varea et al., 2005; Bais et al., 2006; Hartman et al., 2008).

В нашей работе термин гифосфера использовался для обозначения микрзоны, тесно связанная с поверхностью свободных гиф грибов в почве, а термин микоризосфера – для почвенной микрзоны, формирующийся вокруг микоризированных корней растений.

Взросший в последнее время интерес к проблематике микоризосферы и гифосферы, а также межмикробным взаимодействиям связан с тем, что значительная роль в образовании и функционировании большинства симбиозов принадлежит ассоциативным микроорганизмам, не являющихся симбионтами как

такowymi. В процессе эволюции жизни на нашей планете, грибы стали главными агентами разложения сложного органического вещества (De Voer et al., 2005; Frey-Klett et al, 2007; Leveau, Preston, 2007).

2. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НИШИ, ФОРМИРУЕМЫЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ

2.1. Бактериальные сообщества и взаимодействие бактерий и мицелиальных грибов в гифосфере

В гифосфере мицелиальных грибов обнаружен широкий спектр бактерий представленных следующими филумами: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlorobi*, *Proteobacteria*. Среди представителей этих филумов наиболее широко представлены следующие роды бактерий: *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Mesorhizobium*, *Burkholderia*, *Janthinobacterium*, *Variovorax*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aquamonas*, *Rahnella*, *Chryseobacterium*, *Sphingomonas* (Warmink et al, 2009; Sharma et al, 2008; Kluber et al, 2011; Warmink, van Elsas, 2008; Nazir et al, 2009; de Boer et al, 2005).

Взаимоотношения грибов с бактериями в гифосфере могут складываться на основе симбиотических, паразитических и конкурентных отношений.

Так, бактерии могут оказывать положительное влияние на жизнедеятельность грибов. Бактерии, развиваясь на гифах грибов как эпифиты, используют грибные метаболиты и не причиняют им никакого вреда. Примером такого рода взаимоотношений грибов с бактериями является симбиоз грибов с марганцеокисляющими бактериями рода *Metallogenium*, где бактерии используют выделяемую грибами перекись водорода для окисления марганца (Дубинина, 1977), что приводит к образованию марганцевых конкреций в почве (Аристовская, 1965; Болотина, 1975).

Микромицеты родов *Penicillium* и *Trichoderma* в природных условиях находятся в ассоциациях с азотфиксирующими бактериями (роды *Bacillus* и *Arthrobacter*). Грибы как эукариотные организмы не способны фиксировать молекулярный азот из атмосферы, однако в ассоциациях с грибами азотфиксирующая способность бактерий возрастает по сравнению с чистыми

культурами диазотрофных бактерий. Одной из причин усиления азотфиксирующей активности бактерий в ассоциациях с грибами является целлюлолитическая активность грибов, вследствие которой происходит снабжение бактерий доступным энергетическим материалом. Кроме того, благодаря интенсивному потреблению кислорода грибами в процессе разложения целлюлозы, снижается окислительно-восстановительный потенциал среды, что также способствует процессу азотфиксации. В свою очередь, бактерии снабжают грибы необходимым для них азотом (Воронина, 2007).

Бактерии, растущие за счет разрушения живых грибных гиф, обозначают термином микофаги (Leveau, Preston, 2007). Среди бактерий-микофагов наиболее известны представители родов *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, *Collimonas*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Aeromonas*, *Mycococcus*, *Nostoc*.

Стратегии, используемые бактериями-микофагами для получения питательных веществ из грибных тканей можно подразделить на три основные типа: внеклеточные некротрофы, внеклеточные биотрофы, и внутриклеточные биотрофы (Leveau, Preston, 2007).

При некротрофной стратегии, бактерии выделяют ферментные белки и низкомолекулярные токсины. Ферменты лизируют грибные гифы, а токсины нарушают процессы метаболизма.

Внеклеточные биотрофы не убивают клетки грибов, но живут рядом, часто колонизируя поверхность гиф, и питаются прижизненными выделениями мицелия грибов. Биотрофы подавляют выработку антибактериальных метаболитов грибными клетками, изменяя метаболизм грибов. Внутриклеточные биотрофы живут внутри живых клеток грибов, поглощая питательные вещества непосредственно в грибной цитоплазме. Перечисленные типы взаимодействий не являются постоянными и могут изменяться. Известно, что биотрофное взаимодействие может прогрессировать до некротрофного, а внеклеточные биотрофы могут в определенных условиях проникать внутрь клеток грибов (Leveau, Preston, 2007).

Некротрофная стратегия бактерий, основанная на использовании грибов как субстрата известна как микопаразитизм. Поселяющиеся на грибном мицелии бактерии могут лизировать гифы, так как обладают соответствующим набором ферментов: глюкозидазы, хитиназы и липазы. Эти ферменты внеклеточные, и поэтому лизис мицелия в почве может осуществляться и без его колонизации бактериями. Среди бактерий, способных лизировать клеточные стенки грибов (миколитические бактерии), наиболее известны следующие: *Bacillus cereus*, *B. macerans*, *B. megatherium*, *Proteus vulgaris*, *Achromobacter denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Ps. tolaasii*, *Ps. agarici*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. alcaligenes*, *Burkholderia gladioli*, *Erwinia* sp., *Cellvibrio* sp., *Chondromyces* sp., *Flexibacter* sp., *Lysobacter* sp., а также некоторые актиномицеты. Действие миколитических бактерий, изучалось, в основном, в лабораторных условиях на макромицетах, имеющих важное промышленное значение (Sharma et al., 2007; De Boer et al., 2005; Bonfante et al., 2009). Следует отметить, что ген хитиназы, фермента, разрушающего клеточные стенки грибов, обнаружен у широкого круга прокариот, представителей следующих филогенетических групп: *Archaea*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-*, *Deltaproteobacteria*, что значительно расширяет наши знания о способности бактерий к лизису макро- и микромицетов (Манучарова, 2012).

Был описан новый род бактерий *Collimonas*, представители которого способны расти на живых гифах грибов в почве. Эти бактерии часто доминируют среди хитинолитических бактерий в богатых грибами, кислых или песчаных почвах. Бактерии рода *Collimonas* первоначально прикрепляются к концам гиф и разрушают их, используя для этого литические ферменты (De Boer et al., 2005).

Представители порядка *Мухососкалес* также являются активными микофагами. Их называют микрохищниками из-за способности разрушать живые и мертвые клетки дрожжей. Они образуют различные экзоферменты, которые разрушают гифы грибов и клетки дрожжей. Так, миксобактерии считаются в настоящее время ответственными за перфорацию гиф *Rhizoctonia* sp. в почве (Dawid, 2000; Bull, 2002).

Бактерий рода *Paenibacillus*, известны своими внеклеточными литическими ферментами, способными атаковать грибные гифы в почве (Budi et al., 2000).

Особого внимания заслуживает *Pseudomonas tolaasii*, который ведет гетеротрофный образ жизни в почвах и компостах, но при определенных условиях может нападать на гифы грибов (Soler-Rivas et al., 1999).

Актиномицеты также способны к разрушению грибного мицелия. Был детально исследован механизм нападения стрептомицетов на грибы рода *Trichoderma*, состоящий из следующих этапов: (1) хемотропизм бактерии к грибу-хозяину, (2) поселение вокруг гриба-хозяина и формирование аппрессорий, (3) секреции клеточной стенкой бактерий разрушающих грибные клеточные стенки ферментов, (4) их проникновение и (5) деградация содержимого гиф. Подобный механизм был детально описан для рода *Streptomyces* (De Boer et al., 2005).

Мертвый грибной мицелий также может служить питательным субстратом для почвенных бактерий (Мирчинк, 1988; Leveau, Preston, 2007).

Бактерии и актиномицеты могут вступать в конкурентные взаимоотношения с грибами за питательный субстрат, причем их конкурентноспособность повышается за счет выделения антибиотиков и токсинов. Антагонистические взаимоотношения грибов и бактерий можно наблюдать в пищеварительном тракте и экскрементах вермикомпостных червей, где ингибирующее действие на развитие патогенных грибов оказывали бактерии родов *Bacillus* и *Promicromonospora*. В то же время представители родов *Pseudomonas*, *Aquaspirillum* и *Vibrio* стимулировали прорастание спор и развитие мицелия (Ищенко, 1995).

При изучении бактериальных сообществ в гифосфере мицелиальных грибов следует принимать во внимание физическую взаимосвязь, которая существует между мицелиальными грибами и бактериальными клетками. Так, известно, что бактерии в гифосфере в основном концентрируются на поверхности грибного мицелия, формируя биопленки (Nurmiaho-Lassila et al., 1997; Sarand et al., 1998; Levy et al., 2003; De Doer et al., 2005; Frey-Klett et al., 2007; Leveau, Preston, 2007; Bonfante et al., 2009; Nazir et al., 2009; Deveau et al., 2010). Однако, остается

неясным формируются бактериальные биопленки случайно на поверхности гиф гриба или в определенных местах мицелия. Так, показано, что *Burkholderia pseudomallei* преимущественно колонизирует точки прикрепления споры к спорогенным клеткам гриба *Gigaspora decipiens* (Levy et al., 2003). Многочисленные исследования показали, что бактериальные сообщества гифосферы и микоризосферы имеют определенную специфику у разных видов грибов (De Doer et al., 2005; Frey-Klett, Garbaye, 2005; Roesti et al., 2005).

Подвижность бактерий и хемотаксис играют решающую роль в образовании биопленок. Рядом исследователей был обнаружен хемотаксис бактерий к грибной гифе (de Weert et al., 2004; Kamilova et al., 2008; Warmink, van Elsas, 2009). Экспериментально подтверждено предположение (Kohlmeier et al., 2005), что движение бактерий в почве по направлению к грибной гифе происходит по тонкому слою воды (Warmink, van Elsas, 2009).

Эксперимент, проведенный на примере почвенных бактериях *Pseudomonas fluorescens* SBW25, *Paenibacillus peoriae* BD62, *Bacillus cereus* VA1, меченных зеленым флуоресцентным белком, выявил определенную специфику бактериальной колонизации свободного мицелия грибов *Glomus* sp. MUCL 43205 и *Glomus intraradices* (Toljander et al., 2006). Исследователи пришли к выводу, что бактерии различаются по своей способности колонизировать живые и неживые гифы, а также проявляют специфичность к видам грибов. Наряду с бактериальной подвижностью огромную роль играет хемотаксис (вещества хемотаксиса должны быть доступны непосредственно на поверхности грибных гиф или около них) (Warmink et al., 2009).

Активно растущие гифы грибов выделяют в процессе жизнедеятельности сложную смесь метаболитов с низким молекулярным весом, которые играют важную роль в отборе бактерий в гифосфере. Так, обнаружено, что мицелиальные грибы выделяют сахара (трегалоза, а также глюкоза, фруктоза, рибоза), полиолы (маннит, инозит, ксилит, эритрит, арабит), аминокислоты (глутамат, аспарагин), формиат, ацетат, гликоген, олигосахариды и некоторые полимерные соединения (Danell et al., 1993; Rangel-Castro et al., 2002; Frey et al., 1997; Lopez et al., 2007;

Wiemken et al., 2007; Timonen et al., 1998; Izumi et al., 2006; Uroz et al., 2007; Toljander et al., 2007; Griffiths et al., 1994; De Doer et al., 2005; Medeiros et al., 2006). Грибы также выделяют широкий спектр разнообразных сидерофоров, хелатирующих железо, которые могут разлагаться или использоваться бактериями (Winkelmann, 2007). Некоторые вышеперечисленные вещества являются потенциально привлекательными для бактерий, способных к образованию биопленок. Однако, пока только для трегалозы было четко показано положительное действие на формирование биопленки *Pseudomonas fluorescens* на мицелии *Laccaria bicolor* (Frey-Klett et al., 2007).

Выделение антибиотиков также является одним из механизмов отбора бактерий в гифосфере (Frey-Klett et al., 2007).

То, каким образом прокариоты взаимодействуют с клетками гриба, является важным, но мало разработанным вопросом. Только для некоторых случаев выяснены молекулярные и биохимические механизмы. Так, два мутантных штамма *Pseudomonas fluorescens* с повышенной способностью производить внеклеточные полисахариды показали высокую способность к адгезии на поверхности свободного мицелия ВАМ грибов, по сравнению с диким типом, не образующим полисахариды (Bianciotto et al., 2001). С помощью сканирующей электронной микроскопии было показано наличие фибриллярных структур, которые образуются при контакте клеток *Burkholderia pseudomallei* с гифами *Gigaspora decipiens* (Levy et al., 2003). Показано, что для прикрепления бактерий *Rhizobium sp.* к поверхности мицелия *Tuber borchii* необходимо присутствие белка лектина, секретируемого грибом (Cerigini et al., 2008).

Во взаимодействии бактерий с клетками мицелиальных грибов важную роль играет третья система транспорта белков (TTSS) у бактерий. Эта система занимает центральное место в вирулентности многих грамотрицательных бактерий, однако этим не ограничиваются ее функции. Так, бактерии рода *Rhizobium* используют TTSS для коммуникации (Freiberg et al., 1997; Marie et al., 2001). Недавно было описаны разнообразные бактерии в микоризосфере *Laccaria*

proxima, обладающих TTSS (Warmink, van Elsas, 2008), что предполагает возможность ее участия во взаимодействии бактерий с мицелием грибов.

Quorum Sensing (QS) еще одно явление, которое играет важную роль в регуляции свойств бактериальных сообществ, в частности оказывает влияние на вирулентность, чувствительность к веществам, адгезию, подвижность, споруляцию, формирование биопленки, образование антибиотиков (Miller, Bassler, 2001). QS рассматривается как регулятор экспрессии генов в ответ на колебания плотности клеток бактерий (Miller, Bassler, 2001). Сигналами QS у бактерий являются гомосеринлактон и цис-11-метил-2-додеценоевая кислота (Hogan et al., 2004; Leveau, Preston, 2007). Относительно недавно было показано, что микоризные грибы способны разлагать сигнальные молекулы и производить ингибиторы этих молекул, что изменяет механизмы регуляции численности бактерий через механизмы QS (Leveau, Preston, 2007; Uroz et al., 2008). Синтез QS сигналов имеет решающее значение для развития зрелой бактериальной биопленки на мицелии гриба (Whiteley et al., 1999).

Бактерии могут вступать в прямое взаимодействие с мицелием гриба (внеклеточные биотрофы), а могут не вступать (сапротрофы) (Leveau, Preston, 2007). Внеклеточные биотрофы оказывают влияние на физиологию гриба по механизмам: изменение проницаемости мембран, регулируя выделения метаболитов, модификация грибного метаболизма. Появляется все больше доказательств, что бактерии изменяют дифференциацию и развитие клеток гриба самыми разнообразными способами. Индуцируемые бактериями изменения в развитии и дифференциации грибных клеток включают ингибирование или улучшение прорастания, ветвление гиф, рост, выживание, размножение, состав экссудатов и производство антибактериальных метаболитов (De Voer et al., 2005).

Сравнительно недавно был идентифицирован антибиотик ауксофуран, продуцируемый стрептомицетами, и важный для роста эктомикоризного гриба *Amanita muscaria* (Riedlinger et al., 2006). Показано, что синтез антибиотика происходит только при формировании биопленки стрептомицета на грибном

мицелии *Amanita muscaria*, т.е. гриб оказывает стимулирующее действие на синтез антибиотика.

Таким образом, в гифосфере между бактериями и грибами устанавливаются самые разнообразные взаимоотношения от мутуализма до паразитизма. Грибные метаболиты и сигнальные вещества могут способствовать колонизации гиф бактериями и образованию на них бактериальных биопленок.

2.2. Бактериальные сообщества и взаимодействие бактерий и грибов в микоризосфере

2.2.1. Современные представления о микоризосфере

Значительно лучше изучены взаимоотношения бактерий с микоризообразующими грибами в микоризосфере, чем в гифосфере. Термин "микориза" (в переводе с греческого – «грибокорень») был введен Альбертом Бернардом Франком в 1885г. и им же была предложена первая классификация микориз. Микориза – это эволюционно сложившаяся между корнями высших растений и грибами, а также нередко и прокариотами, трофоценотическая, структурно оформленная ассоциация, в которой перечисленные организмы воспроизводятся и сосуществуют в физиологически и экологически взаимозависимом состоянии и в отношениях, называемых мутуалистическим симбиозом (Каратыгин, 1993). В результате такого симбиоза корень претерпевает существенные морфологические и анатомические изменения и приобретает специфические черты.

В образовании микориз различных типов принимает участие около 82% наземных растений (100% голосеменных и 80% цветковых растений), а в настоящее время микоризы обнаружены у некоторых водных растений (Brundrett, 2002). Различные формы микориз присутствуют у представителей более 1000 родов высших растений из почти 400 семейств (Molina, et al., 1992).

В природе образование микориз у растений является правилом, их отсутствие – исключением (Мирчинк, 1988). Наиболее древними истинно безмикоризными растениями, являются представители сем. *Proteaceae*

(Протейные) и сем. *Restionaceae* (Рестиевые), появившиеся более 100 млн. лет назад. Немикоризные растения (НМ) преобладают в переувлажненных и нарушенных вследствие природных катастроф (вулканические извержения, таяние ледников или сильный лесной пожар) или деятельности человека (многолетняя пахота, внесение удобрений, пестицидов и т.п.) местообитаниях, где затруднена встреча растения с микобионтом вследствие разрушения мицелия в почве. Среди древесных и кустарниковых форм не образуют микоризу представители сем. *Proteaceae* (около 1 тыс. видов), широко распространенные в Южном полушарии. Среди травянистых растений не образуют микориз паразитические представители пор. *Santalales* (Санталоцветные) и сем. *Orobanchaceae* (Заразиховые), а также сем. *Alismatáceae*, *Scheuchzeriáceae*, *Potamogetonáceae*, *Juncaceae* (Частуховые, Шейхцериевые, Рдестовые, Ситниковые) (Newman, Reddell, 1987). Причины отсутствия микоризы у некоторых групп растений неизвестны (Воронина, 2007).

Наиболее широко распространенный тип микориз в растительном мире – это везикулярно-арбускулярная микориза (ВАМ). Ее образуют более 300 тыс. видов растений, преимущественно травянистых, и более 150 видов грибов, малоспецифичных к хозяину, облигатных симбионтов, относимых в настоящее время к 3 семействам – *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae* пор. *Glomerales* отдела *Glomeromycota* (Schüssler et al., 2001). Популяции ВАМ грибов занимают в течение долгого времени одни и те же местообитания, если в экосистеме не происходят серьезные нарушения или она не переведена в агроценоз с монокультурой.

Эктомикоризу (ЭМ) образуют около 8 тыс. видов растений, почти исключительно древесные породы и кустарники из Голосеменных – сем. *Pinaceae*, *Cupressaceae* (Сосновые, Кипарисовые) и Покрытосеменных – 18 семейств, из которых важнейшие - сем. *Fagaceae*, *Betulaceae*, *Salicaceae*, *Myrtaceae*, *Tiliaceae* (Буковые, Березовые, Ивовые, Миртовые, Липовые) (Molina et al., 1992). Среди травянистых растений ЭМ обнаружена у *Kobresia bellardii* (сем. *Cyperaceae* – Осоковые) и *Polygonum viviparum* (сем. *Polygonaceae* –

Гречишные), а также видов рода *Carex* (р. Осока) с *Cortinarius cinnamomeus* (Massicotte et al., 1998; Harrington, Mitchell, 2002; Finlay, 2005). В качестве микобионтов выступают преимущественно агарикоидные и гастероидные базидиомицеты, представители следующих семейств: *Amanitaceae*, *Hygrophoraceae*, *Tricholomataceae*, *Cortinariaceae*, *Boletaceae*, *Russulaceae*, *Pisolithaceae*, *Sclerodermataceae*; реже аскомицеты, принадлежащие к сем. *Geoglossaceae*, *Helvellaceae*, *Pezizaceae*, *Elaphomycetaceae*, *Tuberaceae* (Kendrick, 2001; Finlay, 2005). Среди представителей этих преимущественно симбиотрофных семейств также встречаются исключения, например, *Boletinellus merulioides* и *Xerocomus parasiticus*, близкородственные микоризным видам, но не являющиеся микобионтами ЭМ. По оценкам разных авторов от 7 до 10 тыс. видов (примерно 40% всех известных макромицетов) образуют микоризы (Finlay, 2005; Воронина, 2007).

Наиболее существенное значение имеет эктомикориза в лесных сообществах бореальной и умеренной зон, ее формируют преимущественно базидиальные грибы, их биомасса составляет около трети всей микробной биомассы почвы (Wallander et al., 2001). Отличительная особенность базидиомицетных грибов-микоризообразователей – низкая активность гидролитических ферментов, вследствие чего, они не выдерживают конкуренции с грибами – подстилочными сапротрофами, активно разлагающими растительный опад, что и обусловило их совместное существование с корневыми окончаниями деревьев (Мирчинк, 1988). Помимо разностороннего влияния на жизнь растения-хозяина (в частности улучшение минерального питания растений), грибы-эктомикоризообразователи взаимодействуют с широким кругом почвообитающих организмов различных таксономических и функциональных групп (Linderman, 1988; Read et al., 2004; De Boer et al., 2005; Smith, Read, 2008).

Начало исследований бактерий эктомикоризосферы приходится на 60-е годы прошлого века, однако накопление данных о видовом составе и распределении различных групп бактерий в микоризосфере происходило крайне медленно (Katznelson et al., 1962; Garbaye, 1994; Timonen et al., 1998). Можно

предположить, что в микоризосфере по аналогии с ризосферой должны обитать представители разных эколого-трофических групп бактерий, обладающих разными функциями и стратегиями (Curl, Truelove, 1986). Такое предположение основывается на том, что в микоризосфере создаются условия для микроорганизмов, обладающих разнообразными потребностями в питании, реализуемыми как за счет поступления экссудатов грибов и корней растений, так и отмирающих частей мицелия и корней, на которых развиваются гидролитики и сменяющие их со временем копиотрофы и олиготрофы (Добровольская, 2002).

Подсчет бактерий на стеклах обрастания в почве прямым микроскопическим методом указывает на присутствие бактерий на поверхностях грибных гиф и спор, а также на микоризированных корнях. Этим подтверждается то, что грибные экссудаты – главный, если не единственный источник питательных веществ для этих бактерий.

В микоризосфере мицелиальных грибов обнаружен широкий спектр бактерий представленных следующими таксонами: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlorobi*, *Cyanobacteria*, *Spirochaetales*, *Acidobacteria*, *Proteobacteria* (Bonfante and Anca, 2009).

Большинство работ по исследованию состава бактериальных сообществ на поверхности гиф было выполнено на примере культивируемых человеком и экономически важных грибов: микоризообразующих, патогенных и сапротрофных, образующих съедобные плодовые тела. Такие исследования были в значительной степени ограничены культивируемыми формами бактерий. В результате проведенных работ было показано, что представители родов *Pseudomonas*, *Burkholderia* и *Bacillus* доминируют среди бактерий, обитающих на поверхности гиф и плодовых тел (Bertaux et al., 2003; De Boer et al., 2005; Duponnois and Kisa, 2006; Toljander, 2006; Yara et al., 2006; Sharma et al., 2008; Warmink, van Elsas, 2008; Nazir et al., 2009; Hrynkiewicz et al., 2010). Сведения, полученные из работ перечисленных выше авторов, сведены нами в табл. 1.

Таблица 1.

Список родов бактерий, ассоциированных с грибами

Виды грибов	Роды бактерии	Экологическая группа грибов
<i>Suillus grevillei</i>	<i>Pseudomonas, Bacillus, Streptomyces</i>	ЭМ
<i>Lactarius rufus</i>	<i>Burkholderia, Pseudomonas, Paenibacillus</i>	ЭМ
<i>Suillus luteus</i>	<i>Bacillus, Burkholderia, Pseudomonas</i>	ЭМ
<i>Cantharellus cibarius</i>	<i>Pseudomonas</i>	ЭМ
<i>Lactarius spp.</i>	<i>Alpha-, beta-, gamma-Proteobacteria</i>	ЭМ
<i>Laccaria bicolor</i>	<i>Pseudomonas fluorescens, Paenibacillus</i>	ЭМ
<i>Laccaria proxima</i>	<i>Pseudomonas fluorescens, Chryseobacterium piscium, Mycobacterium sp.</i>	ЭМ
<i>Tuber borchii</i>	<i>Pseudomonas, Bacillus, Paenibacillus</i>	ЭМ
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>Agrobacterium, Burkholderia</i>	Сапротроф
<i>Piriformospora indica</i>	<i>Rhizobium radiobacter, Paenibacillus sp. Acinetobacter sp. Rhodococcus sp.</i>	ЭМ
<i>Pisolithus albus</i>	<i>Pseudomonas monteilii</i>	ЭМ
<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	Сапротроф
<i>Lyophyllum karsten</i>	<i>Burkholderia terrae</i>	Сапротроф
<i>Paxillus involutus</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis, Ralstonia pickettii, Sphingomonas sp.</i>	ЭМ
<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	Сапротроф

Условные обозначения:

ЭМ – эктомикоризообразователи

2.2.2. Влияние мицелиальных грибов на бактериальные сообщества микоризосферы.

Характер взаимодействия грибов-микоризообразователей и почвенных бактерий может быть самым разнообразным.

Мицелий грибов-микоризообразователей оказывает влияние на микроорганизмы почвы, привлекая одних и подавляя развитие других путем выработки биологически активных веществ и изменения состава корневых экссудатов – основного источника питания микроорганизмов в прикорневой зоне (Nurmiaho-Lassila et al., 1997; Rangel-Castro et al., 2002).

Микробиологический анализ образцов почв и подстилки в пределах многолетних колоний агарикоидных базидиомицетов (АБ) и за их пределами выявил влияние агарикоидных базидиомицетов на численность (КОЕ /г) бактерий в почвах лесных экосистем (Сидорова, Великанов, 1992; Великанов, 1997; Великанов, Сидорова, 1997; Великанов, Сидорова, 2005). Наиболее распространенный тип регуляторного действия эктомикоризообразующих (ЭМ) АБ на бактерии – многократное увеличение численности сапротрофных бактерий и накопление олигонитрофильных и азотфиксирующих бактерий. Отмечено, в микоризосфере древесных пород заметно увеличивается численность аммонификаторов, сахаролитиков и флуоресцирующих псевдомонад. Для прокариот, выделенных из микоризы, отмечалась большая метаболическая активность и большая потребность в факторах роста по сравнению с бактериями, не ассоциированными с грибами (Katznelson et al., 1962; Великанов, Сидорова, 1997; Nurmiaho-Lassila et al., 1997).

Некоторыми авторами показано, что азотфиксация более активно идет в зоне микоризосферы (Linderman, 1988; Li et al., 1992; Rózycki et al., 1999).

В литературе имеются данные об ускорении роста растений и интенсивности процессов микоризации в тройственных системах «растение – микоризообразующий гриб – азотфиксирующие бактерии» (Chanway, Holl, 1991). Грибы положительно влияют на процесс азотфиксации симбиотическими азотфиксирующими бактериями у бобовых растений. Подобные взаимоотношения складываются также между свободноживущими азотфиксирующими бактериями *Azotobacter chroococcum*, *Clostridium pasteurianum*, *Azospirillum braziensis* и микоризными грибами *Glomus fasciculatus*. В результате взаимодействия увеличивается численность популяции *Azotobacter* и

поддерживается высокий уровень их численности в течение длительного периода времени (Frey-Klett et al., 2007).

Известно, что грибы-микоризообразователи способны использовать нерастворимые соединения фосфора из почвы за счет выделения во внешнюю среду органических кислот (α -кетоглутаровая, щавелевая, лимонная) и фосфатаз, способствующих высвобождению фосфора из органических комплексов (Marschner, Dell, 1994; Koide, Mosse, 2004; Duponnois et al., 2005).

Показано, что в почвах, бедных доступными для растения соединениями фосфора, потребность растения в колонизации микобионтом выше, чем в почвах, богатых фосфором (Kothamasi et al., 2001).

В ЭМ ассоциациях улучшение минерального питания растения еще значительнее: ЭМ корневые окончания сосны поглощают в 3,2 раза больше фосфора и в 1,8 раза больше азота, чем безмикоризная корневая система (Johnson et al., 2004). В мицелиальных матах *Hysterangium setchellii* при разложении подстилки высвобождается примерно вдвое больше азота и фосфора, чем на участках подстилки, незанятых ЭМ мицелием (Entry et al., 1991; Воронина, 2007).

Многие исследования считают, что структура бактериальных сообществ в большей степени зависит от микоризообразующих грибов, чем от растения-хозяина (Roesti, 2005; Duponnois et al., 2005; Singh et al, 2008). ЭМ в значительной степени влияет на популяции флуоресцирующих псевдомонад, осуществляя отбор штаммов со свойствами, полезными симбионтам (Frey-Klett et al., 2005; Assigbetse et al., 2005). На примере ЭМ *Pseudotsuga menziesii* и *Laccaria bicolor* показано, что микобионт значительно модифицирует метаболизм почвенных флуоресцирующих псевдомонад. Штаммы, выделенные из микоризосферы, отличались от обитающих в свободной почве предпочтительным усвоением углеводов, особенно, трегалозы (Frey et al., 1997).

У некоторых видов ЭМ грибов присутствие гриба изменяет активность почвенных бактерий (Великанов, Сидорова, 1997; Nurmiäho-Lassila et al., 1997; Gezer et al, 2006; Barros et al, 2008). Негативный эффект авторы связывают с возникновением конкуренцией за субстрат или антибиотическим действием ЭМ

гриба, а положительный – использованием бактериями разнообразных грибных метаболитов (таблица 2) (Breheret et al., 1997; Горбунова и др., 2009; Wu et al, 2012; Li et al, 2013).

Таблица 2. Соединения, выделяемые некоторыми базидиомицетами

Вид базидиомицета	Экологическая группа	Порядок	Семейство	Выделяемые метаболиты
<i>Clitocybe nebularis</i>	Сапротроф	<i>Agaricales</i>	<i>Tricholomataceae</i>	Антибиотики, терпены
<i>Coltricia perennis</i>	ЭМ	<i>Agaricales</i>	<i>Gomphidiaceae</i>	Терпены
<i>Ramaria stricta</i>	Сапротроф/ ЭМ	<i>Aphyllophorales</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	Фенолы и флаваноиды
<i>Albatrellus ovinus</i>	ЭМ	<i>Aphyllophorales</i>	<i>Albatrellaceae</i>	Антибиотики, полисахариды
<i>Collybia confluens</i>	Сапротроф	<i>Agaricales</i>	<i>Tricholomataceae</i>	Полисахариды
<i>Calocera viscosa</i>	Сапротроф	<i>Tremellales</i>	<i>Dacrymycetaceae</i>	5-гидрокси-триптофан
<i>Clavariadelphus ligula</i>	Сапротроф/ ЭМ	<i>Aphyllophorales</i>	<i>Clavariaceae</i>	Полисахариды
<i>Coprinus comatus</i>	Сапротроф	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricaceae</i>	Полисахариды, трегалоза
<i>Armillaria mellea</i>	Паразит	<i>Agaricales</i>	<i>Physalacriaceae</i>	Антибиотики, полисахариды

Условные обозначения:

ЭМ – эктомикоризообразователи

Наряду с прямым влиянием микобионта на микоризосферные бактериальные сообщества, могут наблюдаться и косвенные воздействия (посредством стимуляции роста корней растения-хозяина, изменения количеств и

состава корневых экссудатов и структуры окружающей почвы) (Rillig, 2004; Johansson et al., 2004).

У симбиотрофных базидиомицетов была выявлена определенная приуроченность некоторых родов бактерий к определенным местообитаниям (Воронина, 2009). Так, роды *Bacillus*, *Cytophaga* и *Mucococcus* присутствовали в гифосфере, микоризосфере и свободной почве, но при этом род *Cytophaga* присутствовал в меньшей степени в микоризосфере, а род *Mucococcus* – в гифосфере. Роды *Micrococcus* и *Pseudomonas* приурочены к микоризосфере и гифосфере, роды *Arthrobacter* и *Flavobacterium* встречаются в гифосфере и свободной почве, а род *Rhodococcus* был выделен только из свободной почвы.

На рост и развитие растения эктомикориза оказывает многоплановое положительное влияние, что связано как с улучшением минерального питания растений (улучшение снабжения азотом, калием, фосфором, микроэлементами), так и с гормональной регуляцией (выделение грибом ауксина, вызывающего усиленное ветвление корневых окончаний), повышением устойчивости растений к патогенам (Кураков, 1985; Hryniewicz et al, 2010). Микоризные грибы изменяют качество и количество корневых экссудатов, что влияет на ризосферную микрофлору и микрофауну (Linderman, 1988). Выделяют следующие механизмы, лежащие в основе защитной функции микоризы: утилизация микобионтом корневых экссудатов, привлекающих патогены в корневую систему; создание механического барьера для патогена в виде ЭМ чехла; выделение микобионтами биологически активных веществ, подавляющих развитие патогена (ингибиторное влияние летучих веществ, выделяемых *Suillus*, *Rhizopogon*, *Lactarius* на *Phytophthora* и *Pythium*); индукция защитных реакций - стимуляция выработки защитных веществ (умеренная защитная реакция на внедрение микобионта – выработка хитиназ у всех типов микориз, хитозаназ и β -1,3-глюконаз у ВАМ, фенолов, этилена); привлечение в ризосферу растения-хозяина популяций микроорганизмов, выполняющих защитные функции (Frey-Klett et al., 2005; Graham, 1988; Kothamasi et al., 2001; Linderman, 1988; Marx, 1969; Morandi, 1996; Newsham et al., 1995; Pozo et al., 2002; Zak, 1964).

Таким образом, грибы-микоризообразователи оказывают существенное влияние на бактериальные сообщества микоризосферы как напрямую (выделение антибиотиков и токсинов, углеводов, мобилизация минеральных веществ) так и опосредованно (изменение состава корневых экссудатов растений, конкуренция за питательные вещества, отбор определенных штаммов бактерий, которые подавляют развитие других).

2.2.3. Влияние бактерий на формирование микоризы

По мнению некоторых авторов на состав бактериальных сообществ, развивающихся в микоризосфере, в значительной степени влияют тип почвы, вид грибного симбионта, место локализации бактерий (Timonen et al., 1998).

Бактерии играют особенно важную роль в высвобождении фосфора и катионов металлов из недоступных соединений. Так, высвобождающиеся в результате бактериального выветривания слюд и нерастворимых фосфатов катионы и фосфат-анионы были обнаружены в микоризосфере, ВАМ и ЭМ, что демонстрирует синергические взаимоотношения между бактериями и микоризными грибами при поглощении питательных веществ (Timonen, Marschner, 2005; Artursson et al., 2006).

Некоторые бактерии, выделяемые из почвы, ЭМ или плодовых тел ЭМ грибов, могут существенно улучшать рост этих грибов *in vitro* (Bowen, Theodorou, 1979; Garbaye, Bowen, 1989; Founoune et al., 2002). О распределении этих бактерий между свободной почвой, микоризосферной почвой и микоризами пока практически ничего неизвестно (Воронина, 2007).

Действие бактерий на процесс образования микоризы зависит как от вида грибного симбионта, так и от вида бактерий. Бактерии, которые способствуют формированию микоризного симбионта, известны как «бактерии-хелперы» («МНВ» - *Mycorrhization Helper Bacteria*) (Garbaye, 1994). Они относятся к различным таксонам бактерий: *Proteobacteria* (роды *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*), *Firmicutes* (роды *Bacillus*, *Paenibacillus*), *Actinomycetes* (роды *Rhodococcus*, *Streptomyces*) (Bending et al., 2002; Poole et al., 2001). К наиболее

хорошо изученным бактериям- «хелперам» относят *Pseudomonas fluorescens*, использующий углеводы (фруктозу, трегалозу), некоторые спирты и органические кислоты, выделяемые грибом. Механизм действия бактерий-«хелперов» заключается в улучшении восприимчивости корней растения-хозяина к микобионту и взаимного узнавания симбионтов, а также в стимуляции прорастания спор и пресимбиотического роста гриба-микоризообразователя (Garbaye, 1994; Frey-Klett, Garbaye, 2005; Deveau et al., 2007; Frey-Klett et al, 2007; Rigamonte et al, 2010).

Влияние бактерий-«хелперов» на микоризацию растений сильно зависит от штамма бактерий и вида микобионта (Danell et al., 1993; Frey-Klett, Garbaye, 2005). Так, штамм *Streptomyces sp.*, выделенный из микоризосферы ели и *Amanita muscaria*, *in vitro* способствовал росту *Amanita muscaria* и *Suillus bovinus*, в то же время ингибировал рост *Hebeloma cylindrosporum* и не оказывал влияния на рост *Paxillus involutus* (Dahm et al., 1988; Schrey et al., 2005).

Отрицательное влияние бактерий на рост ЭМ грибов некоторые авторы связывают с конкуренцией за субстрат и антагонизмом со стороны бактерий (Garbaye, 1994). Негативное действие *Streptomyces sp.* на рост некоторых ЭМ грибов объясняют высокой хитиназной активностью актиномицета (Bowen, Theodorou, 1979).

Бактерии, выделенные из микоризосферы, участвуют в поглощении растением питательных веществ, стимуляция роста и защита растений от патогенов, а также фиксация азота. Нередко, обитающие в зоне микоризосферы ассоциативные бактерии способны усиливать поглощение фосфора растением, переводя фосфаты в растворимую, доступную для растения форму. Многие штаммы «флуоресцирующих псевдомонад», выделенные из микоризосферы, обладают способностью растворять неорганические фосфаты, в противоположность тем штаммам, которые выделялись из почвы без корней (Воронина, 2007). Показано, что некоторые фосфат-растворяющие штаммы бактерий действуют синергически с микоризными грибами, обеспечивая растение-хозяин фосфором. Также осуществляется транспорт в растение ионов

железа – за счет образующих сидерофоры ассоциативных бактерий микоризосферы. Показано, что микоризные растения содержат больше железа, чем немикоризные (Frey-Klett et al., 2005).

В литературе значительно меньше внимания уделено изучению сравнительно недавно описанного домена прокариот – архей (*Archaea*). В отличие от бактерий, высокое разнообразие которых выявляется в свободной почве по сравнению с ризосферой и микоризосферой, разнообразие архейных генов 16S рРНК в свободной почве ниже, чем в ризосфере и микоризосфере (Timonen, Hurek 2006; Sliwinski, Goodman, 2004; Bomberg, 2008).

В микоризосфере и гифосфере базидиальных грибов обнаружены археи, принадлежащие к филумам *Crenarchaeota* (группы 1.1b и 1.1c) и *Euryarchaeota* (роды *Halobacterium* и *Methanolobus*, *Methanosarcina*, *Methanosaeta*). Группа 1.1b *Crenarchaeota*, а также роды *Methanolobus*, *Methanosarcina*, *Methanosaeta* обнаруживаются как на корнях растений, так и в микоризосфере, и, видимо, не приурочены к определенному виду растений и наличию микоризы (Sliwinski and Gudman, 2004; Nicol et al., 2005; Bomberg, 2008). Род *Halobacterium* исключительно обнаруживается в локусах, формируемых грибами (гифосфера, микоризосфера) и не встречается в ризосфере и свободной почве (Sliwinski, Gudman, 2004).

Большинство архейных генов 16S рРНК, обнаруженных в микоризосфере древесных пород растений бореальных лесов принадлежали группе 1.1c *Crenarchaeota*. Эта группа является наиболее распространенной и составляет до 85% от всего архейного сообщества в лесной почве (Kemnitz et al, 2007). Однако в других типах почв, под тропическими лесами и в сельскохозяйственных почвах большинство архей принадлежат к группе 1.1b *Crenarchaeota* (Buckley et al., 1998; Ochsenreiter et al., 2003; Nicol, Schleper, 2006).

Сообщества крен- и эвриархеот могут выполнять различные экологические функции в ризосфере и микоризосфере. Предполагают, что группа 1.1c кренархеот может играть важную роль как в анаэробном так и в аэробном

круговороте C- 1 соединений. Однако, функции архей в ризосфере и микоризосфере остаются пока малоизученными (Bomberg, 2008).

Таким образом, бактерии в микоризосфере оказывают многоплановое (как положительное, так и отрицательное) действие на гриб-микоризообразователь и растение, что особенно характерно для «бактерий-хелперов».

2.3. Бактериальные сообщества плодовых тел напочвенных базидиальных грибов

Плодовые тела базидиомицетов являются важной средой обитания бактерий. Бактерии-микофаги, обладающие протео- и хитинолитической активностью, принимают участие в процессе разложения плодовых тел мицелиальных грибов, и принадлежат к следующим родам *Bacillus*, *Collimonas*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Sphingobacterium*, *Mycetocola*, *Pedobacter*, *Moraxella*, *Staphylococcus* (De Boer et al., 2005; Leveau, Preston, 2007; Sharma et al., 2008). Так, во внутренних тканях плодовых тел *Suillus grevillei*, *Cantharellus cibarius* были обнаружены бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Streptomyces* (Varese et al., 1996; De Boer et al., 2005), во внутренних тканях плодовых тел *Amanita muscaria*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria amethystina*, *L. laccata*, *L. proxima*, *Lycoperdon* sp., *Scleroderma* sp., *S. grevillei*, *S. luteus*, *Thelephora terrestris*, *Xerocomus* sp. доминировали *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. pickettii*, *Chromobacterium violaceum* среди грамотрицательных бактерий, а также стрептомицеты и бациллы среди грамположительных бактерий (Dahm et al., 2005). В плодовых телах *Tricholoma matsutake* были обнаружены бактерии рода *Acinetobacter*, а в плодовых телах *Coprinus disseminates* – *Bacillus* sp. (Tsukamoto et al., 2002). Следует отметить, что доминантами в плодовых телах почти всех базидиомицетов были грамотрицательные бактерии. При этом, численность бактерий в плодовых телах базидиомицетов (*Laccaria laccata*, *Thelephora terrestris*) достигает величин 10^7 КОЕ/г (Dahm et al., 2005).

Некоторые авторы считают, что хитиноподобная активность прокариот может способствовать высвобождению спор из плодовых тел грибов для их прорастания (Dahm et al., 2005). Присутствие бактерий в плодовых телах базидиомицетов влияет на продолжительность жизни плодовых тел. Так, было показано, что при выращивании плодовых тел *Agaricus bisporus* в стерильных условиях, продолжительность жизни плодовых тел была в 2 раза дольше, чем при выращивании в нестерильных условиях с высокой вероятностью заражения бактериальными и грибными инфекциями (Umar, van Griensven, 1997).

Не до конца ясна роль бактерий в процессе автолиза плодовых телах грибов. Считается, что процесс автолиза участвует в росте и ветвлении грибных гиф *Coprinus comatus*, приводящих к удлинению ножки плодового тела (Luo et al., 2004; Jang et al., 2009).

Показано, что автокаталитические ферменты (глюканы и хитиназы) вовлечены в апикальный рост и ветвление вегетативных гиф таких грибов, как *Coprinus comatus*, *Coprinus macrorhizus*, *Coprinus cinereus*, *Neurospora crassa*, *Lentinula edodes*, *Coprinellus congregates* (Kamada et al., 1982; Lim, Choi, 2009; Konno, Sakamoto, 2011).

Однако данные о бактериальных сообществах плодовых тел макромицетов являются крайне немногочисленными и касаются в основном видов макромицетов, выращиваемых в пищевых целях.

Изучение взаимодействия между растениями и бактериями имели значительное влияние на развитие представлений о дифференциации ниш у наземных бактерий. Однако только в последнее время становится понятно, что формирование бактериальных ниш в почве в значительной степени определяется развитием почвенных грибов, как макро-, так микромицетов. Активное развитие грибов в наземных экосистемах привело к потере некоторых трофических ниш для бактерий, но в то же время создало условия для формирования новых ниш.

Комплексное изучение бактериальных сообществ в природных местообитаниях, образованных макромицетами, определение показателей общей численности, потенциальной жизнеспособности, таксономической структуры, родового и видового состава бактерий в природных условиях позволит понять специфику воздействия базидиальных грибов на формирование бактериальных сообществ и биоценотические связи, складывающиеся между грибами и бактериями.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования

Объектами исследования служили образцы дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы и подзола под сложным ельником, отобранные на территории лесного массива заказника Звенигородской биостанции им. С.Н. Скадовского (Московская область, Одинцовский р-н) из 10 пробных площадей для многолетнего наблюдения площадью 100 м² каждая. Выбор этого типа растительной ассоциации был обусловлен высоким видовым разнообразием базидиомицетов-симбиотрофов и слабым развитием травянисто-кустарничкового яруса, что минимизировало влияние других типов микориз и упрощало отбор почвенных образцов. Отбор образцов почвы производили из подстилки и горизонта А1 почвы в зоне обильного роста колоний. Контролем служили образцы почвы с той же глубины за пределами колоний базидиомицетов.

Образцы почвы отбирались в зоне обильного роста колоний под плодовыми телами (гифосфера) следующих 32 видов базидиомицетов – *Albatrellus ovinus*, *Geastrum fornicatum*, *Gomphidius glutinosus*, *Hebeloma sordidum*, *Clitocybe nebularis*, *Gymnopus confluens*, *Lycoperdon perlatum*, *Coltricia perennis*, *Clavariadelphus ligula*, *Amanita citrina*, *Cortinarius betuletorum*, *C. flexipes*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *L. camphoratus*, *L. flexuosus*, *Rhodocollybia butyracea*, *Tricholoma fulvum*, *Polyporus umbellatus*, *Onnia tomentosa*, *Geastrum fimbriatum*, *Amanita crocea*, *Amanita phalloides*, *Amanita muscaria*, *Amanita pantherina*, *Hydnum repandum*, *Cantharellus cibarius*, *Scleroderma citrinum*, *Phallus impudicus*, *Scleroderma bovista*, *Thelephora terrestris*. Для 10 видов базидиомицетов отбирались образцы почвы из зоны микоризных окончаний (микоризосфера) – *Amanita citrina*, *Cortinarius betuletorum*, *C. flexipes*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *L. camphoratus*, *L. flexuosus*, *Rhodocollybia butyracea*, *Tricholoma fulvum*.

Для исследования были взяты образцы следующих почв (Названия почв приведены по «Классификации и диагностике почв России» (2004)):

1. Дерново-палево подзолистая среднесуглинистая в сложном ельнике с примесью березы и широколиственных пород (клен, дуб), в травянистом ярусе преобладали сныть, осоки (для *Polyporus umbellatus*, *Gomphidius glutinosus*, *Clitocybe nebularis*, *Geastrum fornicatum*).

Описание разреза (Великанов, 1997):

- | | | |
|----------------|----------|---|
| L | 0-1 см | Листовой и хвойный опад малой и средней степени разложения. Много скелетированных листьев. Переход ясный. |
| F | 1-2 см | Груборазложившаяся растительная масса из листьев и хвои. Темный, рыхлый. Переход постепенный. |
| H | 2-3 см | Разложившаяся масса листьев и хвои. Темного цвета. Более однородная, чем предыдущий слой. Темно-бурый до черного. Бесструктурный. Переход ясный. |
| A | 4-12 см | Желтовато-буроватый с палевым оттенком. Среднесуглинистый, опесчаненный, пронизанный корнями растений. Рыхлый. Комковатый до бесструктурного. Переход постепенный. |
| E | 13-26 см | Белесо-палево-буроватый. Более светлый, чем предыдущий. Структура пластинчато-пылеватая не ясновыраженная. Видны корни растений. Легкий суглинок, опесчаненный. Переход постепенный. |
| B ₁ | 27-44 см | Светло-палево-бурый, немного темнее предыдущего. Легкий суглинок, опесчаненный. Рыхлый, бесструктурный. Переход постепенный. |
| B ₂ | 45-47 см | Палево-бурый, немного темнее предыдущего. Легкий суглинок, опесчаненный. Следы оглеения. Бесструктурный. Вкрапления мелких камней и валунчиков. Очень влажный. Весной и осенью по B ₂ идет верховодка. |
| C | 48-75 см | Желто-палевый. Средний суглинок. Плотнее предыдущего. Сильно оглеенный. Есть камешки и валунчики. |

2. Подзол легкосуглинистый на двучленном маломощном пылеватом суглинке, подстилаемом флювиогляциальными песками на водораздельном плато под ельником зеленомошном, полностью доминирует ель, травяной покров развит слабо, единично встречаются осока пальчатая, рамишия однобокая, моховой покров хорошо развит и состоит из *Pleurozium schreberi*, *Hyloconium proliferum* (для *Albatrellus ovinus*, *Geastrum fimbriatum*, *Thelephora terrestris*, *Lycoperdon perlatum*, *Coltricia perennis*, *Hebeloma sordidum*, *Gymnopus confluens*).

Описание разреза (Великанов, 1997):

О	0-3 см	Состоит из опавшей хвои, ветвей, шишек, остатков мха, находящихся на разных стадиях разложения, коричнево-бурый до почти черного, густо переплетен гифами грибов.
А ₀	3-10 см	В верхней части сероватый грубогумусный, ниже белесый со слабым буроватым оттенком, рыхлый, бесструктурный, густо переплетен корнями деревьев, легкосуглинистый, пылеватый.
Е	10-35 см	Белесоватый, структура пластинчатая, выражена неясно, пористый, рыхловатый, корни ветвятся слабо, легкосуглинистый несколько опесчаненный, встречаются единичные валунчики
В ₁	35-60 см	Светло-бурый с желтоватым оттенком, сцементированный. Неоднородный по размерам частиц песок с большим числом валунчиков. Встречаются более плотные пятна красновато-бурого сцементированного среднезернистого песка, местами в виде ортзандовых прослоек.
В ₂	60-91 см	Светло-бурый с желтоватым оттенком плотноватый. Сцементированный неоднородный песок с большим количеством мелких валунчиков. Местами ортзандовые прослойки темно-красновато-бурой окраски.
В ₃	91-145 см	Охристо-желтый рыхлый песок, местами с наличием незначительных ортзандовых прослоек разной мощности.
С	145-170 см	Крупнозернистый кварцевый песок с примесью темно окрашенных полевошпатных минералов и мелких листочков слюды с небольшим количеством гальки и гравия, сырой. Единичные корни елей.

3. Дерново-глубокоподзолистая легкосуглинистая почва в ельнике мертвопокровном на водораздельном плато (для *Cantharellus cibarius*, *Onnia tomentosa*, *Scleroderma bovista*, *Scleroderma citrinum*, *Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita pantherina*, *Clavariadelphus ligula*, *Cortinarius betuletorum*, *Cortinarius flexipes*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Hydnum repandum*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *Lactarius camphoratus*, *Lactarius flexuosus*, *Phallus impudicus*, *Rhodocollybia butyracea*, *Tricholoma fulvum*).

Описание разреза (Великанов, 1997):

A ₀	0-2 см	Масса хвои, веточек и шишек разной степени разложения.
A ₁	3-14 см	Желтовато-палево серый. Бесструктурный, легкий суглинок. Опесчаненный. Ходы червей.
A ₂	15-26 см	Серовато-белесого цвета. Слегка слоистый до бесструктурного. Рыхлый легкий суглинок сильно опесчаненный. Есть корни елей и ходы червей. Переход постепенный.
B ₁	27-48 см	Красновато-бурый с белесыми прожилками, бесструктурный, уплотненный, Легкий суглинок. Имеются корни ели и ходы червей. Переход постепенный.
B ₂	49-83 см	Красно-бурый. Плотноватый. Структура слабо-призматическая, глыбистая. Легкий суглинок. Отдельные корни елей. Много включений гальки и валунчиков.
B ₃	84-110 см	Красно-бурый. Цементированный, супесь. Много включений гальки и валунчиков.
C	111-160 см	Желто-бурый. Песчаный, рыхлый. Много включений гальки и валунчиков.

Также объектами исследования служили образцы плодовых тел 5 видов базидиомицетов – *Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita pantherina*.

Отбор образцов проводили в течение вегетационного периода 2010-2013 годов. Всего проанализировано 87 образцов почвы и 5 образцов плодовых тел

базидиомицетов. До анализа образцы хранились в холодильной морозильной камере бытового холодильника.

Также отбор объектов исследования проводился на территории Ботанического сада МГУ на Воробьевых горах. Здесь объектами исследования служили образцы плодовых тел разного возраста двух видов базидиомицетов – *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus* (таблица 1). Образцы плодовых тел отбирали на небольшой площади (менее 1 м²). Для исследования отбирали по одному экземпляру плодового тела каждого возраста обоих видов базидиомицетов. Ниже приведена характеристика плодовых тел, отобранных для анализа.

Armillaria mellea:

1 – этап созревания (возраст плодового тела 3 суток): шляпка нераскрыта, полностью прилегает к ножке гриба, высота ПТ 3 см, диаметр 1,5 см.

2 – этап осыпания спор (возраст плодового тела 8 суток): шляпка полностью раскрыта, пластинки белого цвета, высота ПТ 6 см, диаметр шляпки 5,5 см.

3 – начальный этап разложения (возраст плодового тела 12 суток): пластинки коричневого цвета, ножка имеет черный оттенок у шляпки, немногочисленные личинки мицетофилид, высота ПТ 7 см, диаметр 7,5 см.

4 – заключительный этап разложения (возраст плодового тела 14 суток): шляпка представляет собой темно-коричневую массу с многочисленными личинками мицетофилид, ножка серо-зеленого цвета.

Coprinus comatus:

1 – этап созревания (возраст плодового тела 1 сутки): плодовое тело имеет форму шара (2 см в диаметре)

2 – этап созревания (возраст плодового тела 3 суток): шляпка полностью прилегает к ножке

3 – этап образования спор (возраст плодового тела 8 суток): полностью сформированное плодовое тело без признаков разложения

4 – заключительный этап разложения (возраст плодового тела 9 суток): активное развитие процесса автолиза, шляпка представляет собой желеобразную темную массу, ножка без признаков разложения.

Отбор образцов проводили в октябре 2012 года. Микробиологические анализы образцов проводили в день отбора проб. Отбор плодовых тел *Armillaria mellea* проводился на территории дендрария в липняке, почва – технодерново-подзолистая постагрогенная глубоко пахотная на покровном суглинке (O-AYtch-P-ELBT-BT1-BT2) (Рослякова, 2014), плодовые тела *Coprinus comatus* отбирались возле сосняка, почва – серогумусовая на техногенных отложениях, подстилаемая горизонтами агродерново-подзолистой почвы (O-AYur-TCH/P-[ELBT]-[BT]) (Рослякова, 2014).

Все исследованные виды базидиомицетов (34 вида) являются типичными представителями лесного биогеоценоза, относятся к 20 семействам, трем морфологическим (агарикоидные, афиллофороидные, гастероидные) и эколого-трофическим группам (сапротрофы, эктомикоризообразователи, сапротрофы/эктомикоризообразователи) (таблица 1).

Таблица 1. Таксономическая принадлежность и группы базидиомицетов

Вид базидиомицета	Семейство	Порядок	Класс	Номер и сокращение на рисунках	Морфологическая группа	Экологическая группа
<i>Coprinus comatus</i>	<i>Agaricaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	-	Агарикоидные	Сапротроф
<i>Lycoperdon perlatum</i>	<i>Agaricaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	1 Lp	Гастероидные	Сапротроф
<i>Amanita citrina</i>	<i>Amanitaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	2 Ac	Агарикоидные	ЭМ
<i>Amanita crocea</i>	<i>Amanitaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	3 Acr	Агарикоидные	ЭМ
<i>Amanita muscaria</i>	<i>Amanitaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	4 Am	Агарикоидные	ЭМ
<i>Amanita pantherina</i>	<i>Amanitaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	5 Ap	Агарикоидные	ЭМ
<i>Amanita phalloides</i>	<i>Amanitaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	6 Aph	Агарикоидные	ЭМ
<i>Cortinarius betuletorum</i>	<i>Cortinariaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	7 Cb	Агарикоидные	ЭМ
<i>Cortinarius flexipes</i>	<i>Cortinariaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	8 Cf	Агарикоидные	ЭМ
<i>Laccaria laccata</i>	<i>Hydnangiaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	9 Ll	Агарикоидные	ЭМ
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	<i>Hymenogastraceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	10 Hc	Агарикоидные	ЭМ

Продолжение таблицы 1.

Вид базидиомицета	Семейство	Порядок	Класс	Номер и сокращение на рисунках	Морфологическая группа	Экологическая группа
<i>Hebeloma sordidum</i>	<i>Hymenogastraceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	11 Hs	Агарикоидные	Сапротроф
<i>Gymnopus confluens</i>	<i>Marasmiaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	12 Gc	Агарикоидные	Сапротроф
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	<i>Marasmiaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	13 Rb	Агарикоидные	ЭМ
<i>Armillaria mellea</i>	<i>Physalacriaceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	-	Агарикоидные	Паразит факультативный
<i>Clitocybe nebularis</i>	<i>Tricholomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	14 Cn	Агарикоидные	Сапротроф
<i>Tricholoma fulvum</i>	<i>Tricholomataceae</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	15 Tf	Агарикоидные	ЭМ
<i>Gomphidius glutinosus</i>	<i>Gomphidiaceae</i>	<i>Boletales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	16 Gg	Агарикоидные	ЭМ
<i>Scleroderma bovista</i>	<i>Sclerodermataceae</i>	<i>Boletales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	17 Sb	Гастероидные	Сапротроф/ЭМ
<i>Scleroderma citrinum</i>	<i>Sclerodermataceae</i>	<i>Boletales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	18 Sc	Гастероидные	ЭМ

Продолжение таблицы 1.

Вид базидиомицета	Семейство	Порядок	Класс	Номер и сокращение на рисунках	Морфологическая группа	Экологическая группа
<i>Cantharellus cibarius</i>	<i>Cantharellaceae</i>	<i>Cantharellales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	19 Cc	Афиллофороидные	ЭМ
<i>Hydnum repandum</i>	<i>Hydnaceae</i>	<i>Cantharellales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	20 Hr	Афиллофороидные	ЭМ
<i>Geastrum fimbriatum</i>	<i>Geastraceae</i>	<i>Geastrales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	21 Gf	Гастероидные	Сапротроф
<i>Geastrum fornicatum</i>	<i>Geastraceae</i>	<i>Geastrales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	22 Gfr	Гастероидные	Сапротроф
<i>Coltricia perennis</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	<i>Hymenochaetales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	23 Cp	Афиллофороидные	Сапротроф/ЭМ
<i>Onnia tomentosa</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	<i>Hymenochaetales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	24 Ot	Афиллофороидные	Сапротроф
<i>Clavariadelphus ligula</i>	<i>Gomphaceae</i>	<i>Phallales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	25 Cl	Афиллофороидные	Сапротроф/ЭМ
<i>Phallus impudicus</i>	<i>Phallaceae</i>	<i>Phallales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	26 Pi	Гастероидные	Сапротроф/ЭМ
<i>Polyporus umbellatus</i>	<i>Polyporaceae</i>	<i>Polyporales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	27 Pu	Афиллофороидные	Сапротроф

Продолжение таблицы 1.

Вид базидиомицета	Семейство	Порядок	Класс	Номер и сокращение на рисунках	Морфологическая группа	Экологическая группа
<i>Albatrellus ovinus</i>	<i>Albatrellaceae</i>	<i>Russulales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	28 Ao	Афиллофороидные	Сапротроф
<i>Lactarius aurantiacus</i>	<i>Russulaceae</i>	<i>Russulales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	29 La	Агарикоидные	ЭМ
<i>Lactarius camphoratus</i>	<i>Russulaceae</i>	<i>Russulales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	30 Lc	Агарикоидные	ЭМ
<i>Lactarius flexuosus</i>	<i>Russulaceae</i>	<i>Russulales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	31 Lf	Агарикоидные	ЭМ
<i>Thelephora terrestris</i>	<i>Thelephoraceae</i>	<i>Thelephorales</i>	<i>Agaricomycetes</i>	32 Tt	Афиллофороидные	Сапротроф/ЭМ

Методы исследования

Определение общей численности бактерий в исследуемых образцах проводилось при помощи метода прямой микроскопии с использованием люминесцентного микроскопа «Axiskop 2+» (объектив x100, масляная иммерсия).

Для окрашивания почвенной суспензии использовался краситель акридин оранжевый (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Подготовка образца предусматривала следующие этапы: пробу массой 1 г помещали в колбу со 100 мл стерильной водопроводной воды. В случае, когда в качестве пробы бралась не почва, а плодовое тела гриба, то его взвешивали, измельчали ножницами в стерильных условиях, а затем помещали в колбу со 100 мл стерильной водопроводной воды. Почвенную суспензию или измельченное плодовое тело для десорбции клеток с поверхности почвенных частиц/тканей гриба обрабатывали ультразвуком на приборе УДНЗ-1 (2 мин, 22 кГц, 0,44).

Приготовление препаратов и их последующая окраска акридином оранжевым проводилась по стандартной методике: на стекло наносили 200 мкл суспензии и распределяли по площади 2x2 см², затем стекло фиксировали в пламени горелки и окрашивали акридином оранжевым (в соотношении красителя и воды 1:10000, 2-4 мин) непосредственно перед просмотром под микроскопом с УФ источником света. После окрашивания стекло дважды промывали водопроводной водой, чтобы смыть лишний краситель. Из каждого образца готовили 6 препаратов, на каждом препарате подсчитывали клетки в 30 полях зрения. Клетки бактерий имели зеленое свечение под люминесцентным микроскопом. Расчет количества бактериальных клеток на 1 г субстрата производили по формуле:

$$N = S_1 \cdot a \cdot n / V \cdot S_2 \cdot C,$$

где

N – число клеток на 1 г субстрата;

S₁ – площадь препарата (мкм²);

a – количество клеток бактерий в одном поле зрения (усреднение производится по всем препаратам);

n – показатель разведения бактериальной смеси (мл);

V – объем капли, наносимой на стекло (мл);

S_2 – площадь поля зрения микроскопа (мкм^2);

C – навеска субстрата (1 г).

Препараты для количественного учета бактерий просчитывали по 180 полей зрения. В качестве красителя применяли акридин оранжевый. Соотношение воды и красителя 1:10000, время окрашивания – 2-4 минут. После окрашивания препараты промывали в стоячей водопроводной воде в течение 5 минут, после чего их высушивали на воздухе.

Численность и потенциальную жизнеспособность бактерий определяли с помощью флуоресцентного двухкомпонентного красителя L7012 (*LIVE/DEAD*) (Molecular Probes, 1994) в соответствии с рекомендациями производителя. Применение этого красителя позволяет определить как общую численность бактерий, так и потенциальную жизнеспособность бактерий по степени повреждения наружной мембраны клеток.

Разнообразие и численность отдельных филогенетических групп бактерий оценивали с помощью метода *FISH* (*fluorescence in situ hybridisation*). В этом методе применяли зонды на следующие таксономические группы бактерий: *Eubacteria*, *Firmicutes*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*. Подготовку образцов и выявление указанных таксономических групп бактерий проводили по стандартной методике (Манучарова, 2008).

Численность и таксономическую структуру сапротрофного бактериального комплекса исследовали методом посева почвенной суспензии на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (ГПД) с нистатином из разведений 1:100, 1:1000, 1:10000 в 3-ех кратной повторности (Лысак и др., 2003).

Состав ГПД среды:

Вода – 1000 мл,

Пептон – 2 г,

Гидролизат казеина – 1 г,

Глюкоза – 1 г,

Дрожжевой экстракт – 1 г,

Глицерин – 5 мл,

Мел – 1 г,

Агар – 20 г.

Нистатин добавляется из расчета 500 000 ЕД на 500 мл среды.

Учет бактерий, выросших на средах, проводили на 10-14 сутки, определяя общее число колоний и численность отдельных таксономических групп. Для этого представителей основных морфологических типов изолировали на скошенный агар и идентифицировали до рода. Идентификация проводилась на основании изучения культуральных, микроморфологических и некоторых физиолого-биохимических признаков (тест Хью-Лейфсона, наличие оксидазы) при помощи ключа для определения родов почвенных бактерий (Лысак и др., 2003) и по общепринятым определителям (Определитель бактерий Берджи, 1997). По относительному обилию отдельных родов бактерий в бактериальном комплексе выделяли: доминанты (относительное обилие выше 30%), субдоминантами (относительное обилие 20-30%), группа среднего обилия (10-20%), минорные компоненты (относительное обилие менее 10%) (Добровольская, 2002).

Сходство бактериальных комплексов гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы оценивалось с помощью количественного модифицированного коэффициента Серенсена (Брея – Кертиса), который учитывает не только родовой состав бактериальных комплексов, но и обилие родов бактерий.

Количественный модифицированный индекс Серенсена вычисляли по формуле:

$$S_s = \frac{2\sum \min(C1_i, C2_i)}{\sum C1_i + \sum C2_i},$$

где $C1_i$, $C2_i$ – обилие i -го рода в первом (гифосфера) и втором (контроль) комплексе соответственно, $\min(C1_i, C2_i)$ – минимальное обилие i -го рода в двух сравниваемых комплексах. Этот коэффициент изменяется от 0 (в сравниваемых комплексах вообще отсутствуют общие роды) до 1 (относительные обилия всех родов в сравниваемых комплексах равны).

Для выявления статистически достоверных различий средних значений численности подсчитывали доверительный интервал с уровнем вероятности 0.95. Для построения дендрограмм сходства сапротрофных бактериальных комплексов исследуемых образцов базидиомицетов пользовались программой Statistica 6.0.

Модельные опыты по адгезии разных родов бактерий на поверхности гиф базидиомицетов проводили по следующей методике:

1. Базидиальные грибы *Coprinus comatus*, *Clitocyba nebularis*, *Phallus impudicus* культивировали на ГПД среде в течение 2-4 недель. Бактерии *Bacillus subtilis*, *Arthrobacter globiformis*, *Pseudomonas fluorescens* и *Xanthomonas sp.* культивировались на ГПД среде в течение 1-2 суток.
2. Далее бактериальную биомассу переносили в пробирки со стерильной водопроводной водой, куда также вносили вырезанные кусочки среды с мицелием базидиомицета.
3. Пробирку перемешивали на вортексе в течение 5 секунд.
4. Спустя 1, 5 и 9 суток из этих пробирок извлекали кусочки среды с мицелием базидиомицета, переносили их на чистое предметное стекло, высушивали на воздухе и фиксировали в пламени горелки.
5. Далее приготовленные таким образом препараты окрашивали красителем акридином оранжевым и просматривали с использованием люминесцентного микроскопа «Axiskop 2+».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ГИФОСФЕРЫ ИССЛЕДОВАННЫХ ВИДОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

1.1. Определение общей численности бактерий прямым микроскопическим методом

Показатели общей численности бактерий в почвенных локусах являются важной характеристикой интенсивности процессов, осуществляемых бактериями в почве. Были исследованы бактериальные сообщества гифосферы 20 видов базидиомицетов, относящихся к наиболее часто встречающимся в зоне Южной тайги семействам: *Agaricaceae*, *Albatrellaceae*, *Amanitaceae*, *Cantharellaceae*, *Clavariadelphaceae*, *Geastraceae*, *Gomphidiaceae*, *Hydnaceae*, *Hymenochaetaceae*, *Omphalotaceae*, *Phallaceae*, *Sclerodermataceae*, *Thelephoraceae*, и *Tricholomatacea*, представленных тремя морфологическими группами: агарикоидные (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita pantherina*, *Amanita phalloides*, *Clitocybe nebularis*, *Gomphidius glutinosus*, *Gymnopus confluens*), афиллофороидные (*Albatrellus ovinus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus ligula*, *Coltricia perennis*, *Hydnum repandum*, *Onnia tomentosa*, *Thelephora terrestris*) и гастероидные (*Geastrum fornicatum*, *Lycoperdon perlatum*, *Phallus impudicus*, *Scleroderma citrinum*, *Scleroderma bovista*) (см. таблицу 1 на стр. 43-46). Исследовали образцы почвы, отобранные в зоне обильного роста колоний базидиомицетов под плодовыми телами (гифосфера), а также контрольные образцы почвы (вне зоны роста колоний базидиомицетов).

Результаты определения общей численности бактерий с использованием красителя акридина оранжевого приведены на рисунках 1, 2, 3, 4 и в таблице 1 приложения. Как видно из полученных данных, агарикоидные базидиомицеты по характеру действия на бактерии отличаются от гастероидных и афиллофороидных базидиомицетов.

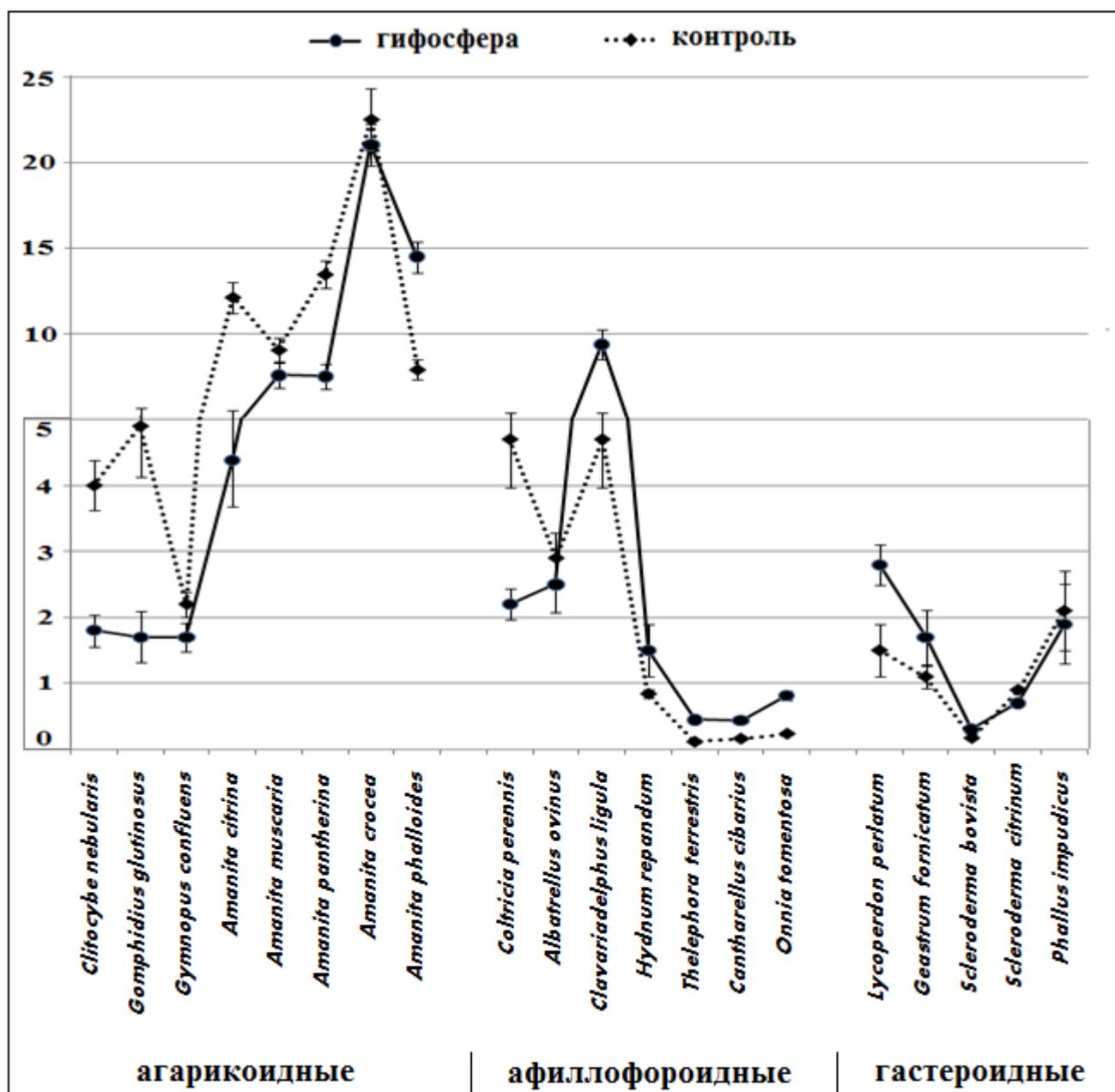


Рисунок 1. Общая численность бактерий в образцах гифосферы базидиомицетов разных морфологических групп и контрольной почвы, млрд. клеток/г.

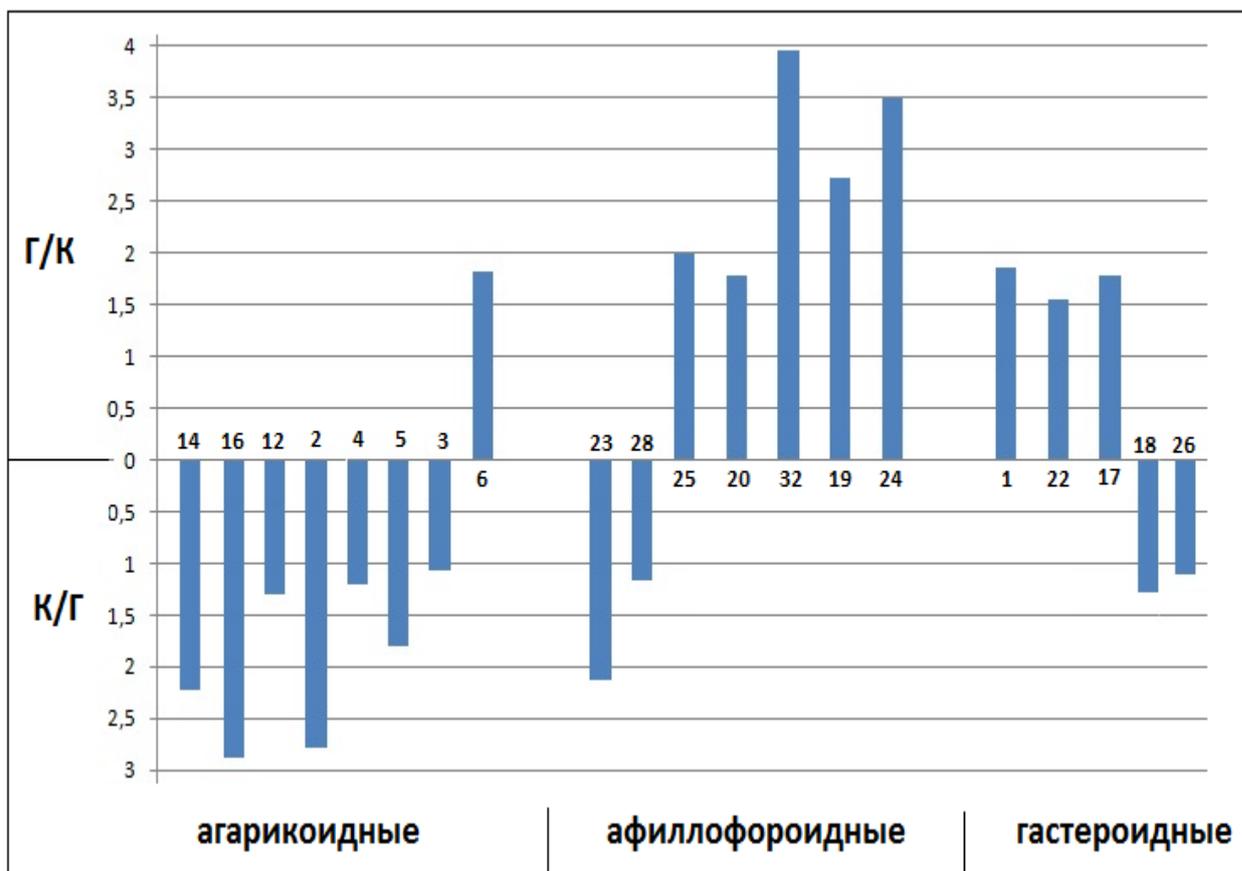


Рисунок 2. Отношение показателей общей численности бактерий в гифосфере (Г) и контрольной почве (К). Цифрами у столбцов обозначены виды базидиомицетов (см. таблицу 1 на стр. 43-46).

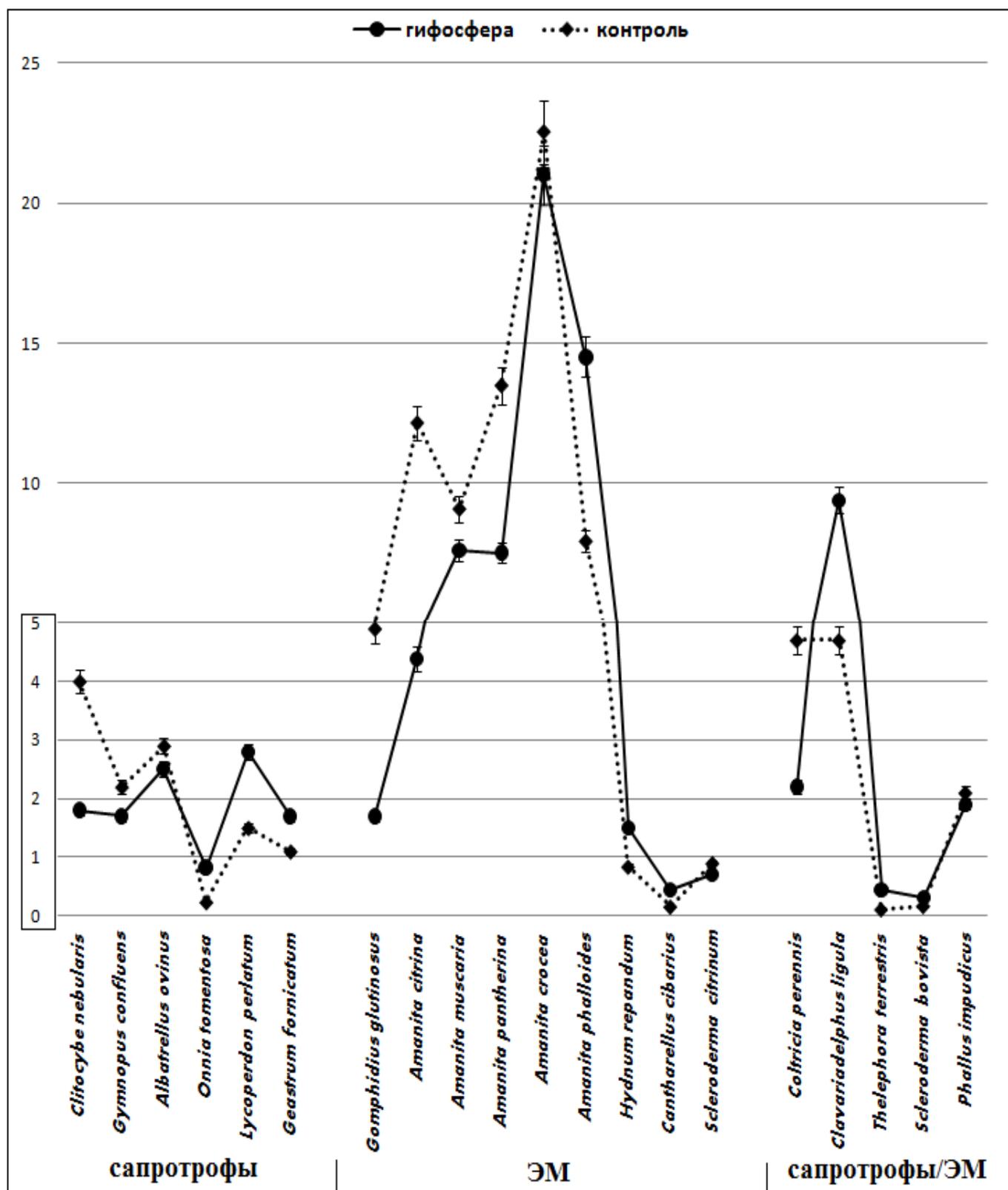


Рисунок 3. Общая численность бактерий в образцах гифосферы базидиомицетов разных эколого-трофических групп и контрольной почвы, млрд. клеток/г

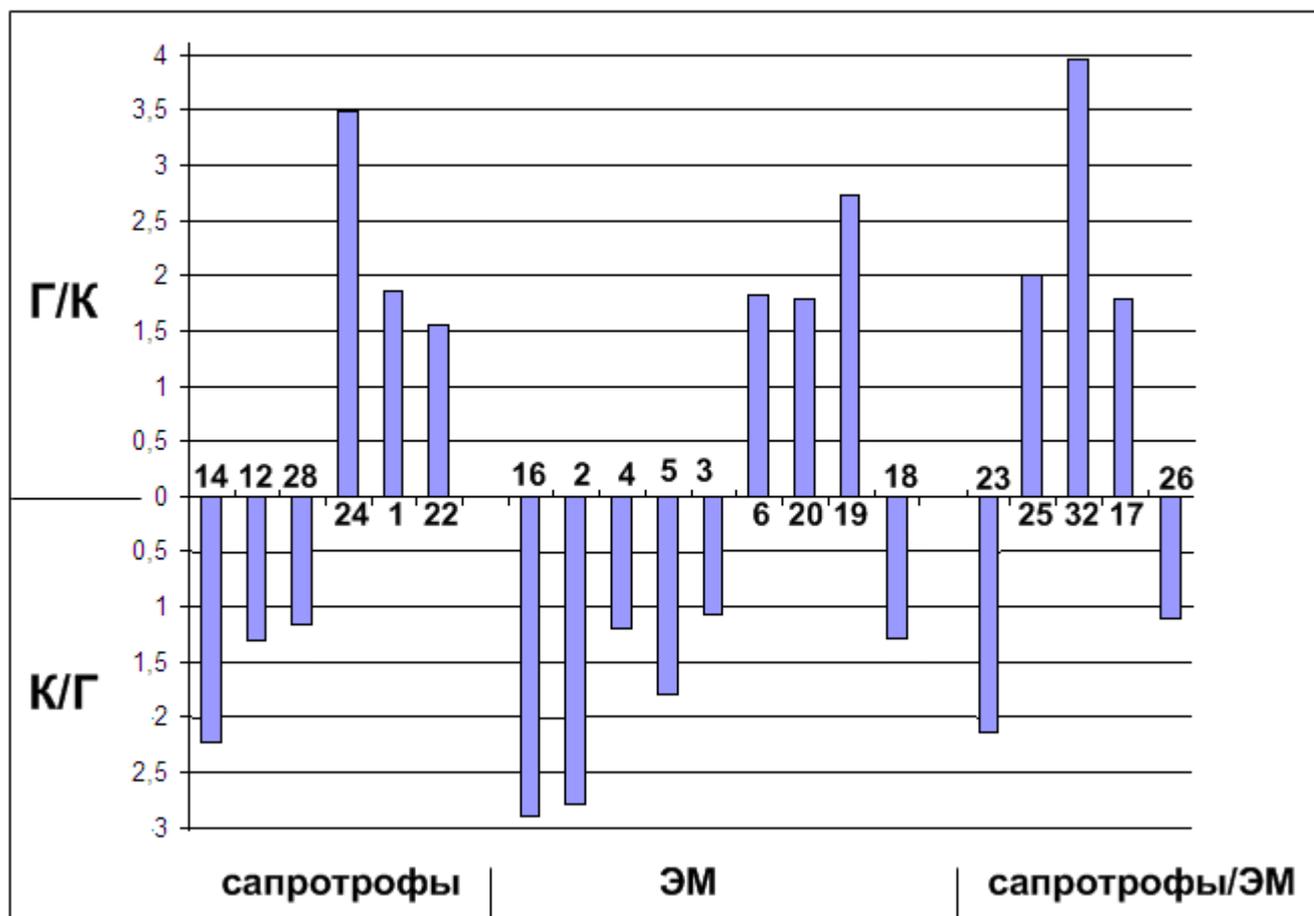


Рисунок 4. Отношение показателей общей численности бактерий в гифосфере (Г) и контрольной почве (К). Цифрами у столбцов обозначены виды базидиомицетов (см. таблицу 1 на стр. 43-46).

Так, в гифосфере большинства агарикоидных базидиомицетов (*Gomphidius glutinosus*, *Clitocybe nebularis*, *Gymnopus confluens*, *Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita pantherina*) общая численность бактерий была ниже, чем в контроле в 2,8-1,3 раза. Показатели общей численности бактерий в гифосфере агарикоидных базидиомицетов изменялись от 1,7 до 21,0 млрд. клеток/г, причем наибольшие показатели были выявлены у *Amanita crocea* и *Amanita phalloides*. В контрольной почве показатели общей численности бактерий изменялись от 2,2 до 22,5 млрд. клеток/г. Следует отметить, что только для *Amanita phalloides* показатели общей численности бактерий в гифосфере превышали численность в контроле в 1,8 раз.

В гифосфере большинства афиллофороидных базидиомицетов (*Clavariadelphus ligula*, *Onnia tomentosa*, *Hydnum repandum*, *Cantharellus cibarius*,

Thelephora terrestris) общая численность бактерий была выше, чем в контроле в 1,5-1,9 раз. Показатели общей численности бактерий в гифосфере афиллофороидных базидиомицетов изменялись от 0,4 до 9,4 млрд. клеток/г, при этом, наибольшие значения были выявлены в гифосфере *Clavariadelphus ligula*. Показатели общей численности бактерий в контрольной почве изменялись от 0,1 до 4,7 млрд.клеток/г. В гифосфере двух видов афиллофороидных базидиомицетов (*Albatrellus ovinus*, *Coltricia perennis*) показатели общей численности бактерий были ниже, чем в контроле в 1,2-2,1 раза.

В гифосфере большинства гастероидных базидиомицетов (*Lycoperdon perlatum*, *Geastrum fornicatum*, *Scleroderma bovista*) общая численность бактерий была выше, чем в контроле в 1,5-1,9 раз, а у 2 видов (*Scleroderma citrinum*, *Phallus impudicus*) – практически не изменялась. Показатели общей численности бактерий в гифосфере гастероидных базидиомицетов изменялись от 0,3 до 2,8 млрд.клеток/г, а в контроле – от 0,2 до 2,1 млрд. клеток/г.

Вероятно, уменьшение общей численности бактерий в гифосфере некоторых базидиомицетов (большинства агарикоидных и некоторых афиллофороидных и гастероидных) по сравнению с контролем определяется воздействием антибиотических веществ грибов. Известно, что *Gomphidius glutinosus* способен к образованию монотерпенов, обладающих антибактериальным действием (Breheret et al., 1994), *Clitocybe nebularis* образует антибиотики клитоцибин, диатретин, небулярин (Горбунова и др., 2009), водный экстракт из плодовых тел этого вида подавлял развитие большинства бактерий, за исключением *Pseudomonas* (Сидорова, Великанов, 2000), *Albatrellus ovinus* образует антибиотик грифолин (Nukata et al., 2002), *Gymnopus confluens* и *Coltricia perennis* также обладают антибактериальной активностью (Barros et al., 2008; Gezer et al., 2006).

Увеличение общей численности бактерий в гифосфере большинства афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов по сравнению с контролем может быть связано с появлением большего количества легкодоступных питательных веществ в почве в результате активного разложения грибами

труднодоступных источников углерода и их меньшей антибактериальной активностью по сравнению с агарикоидными.

Известно, что некоторые из изученных нами базидиомицетов способны к образованию эктомикоризы на корнях древесных растений. Сравнение показателей общей численности бактерий в гифосфере базидиомицетов разных экологических групп (сапротрофы, микоризообразователи, сапротрофы-микоризообразователи) и контрольной почве не позволило выявить четких закономерностей (рисунки 3, 4). В гифосфере большинства видов базидиомицетов, способных к образованию микоризы (*Gomphidius glutinosus*, *Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita pantherina*, *Scleroderma citrinum*) общая численность бактерий была ниже, чем в контроле, а в гифосфере некоторых видов сапротрофных (*Onnia tomentosa*, *Lycoperdon perlatum*, *Geastrum fornicatum*) и сапротрофов/микоризообразователей (*Thelephora terrestris*, *Clavariadelphus ligula*, *Scleroderma bovista*) численность бактерий была выше, чем в контроле.

Таким образом, в гифосфере большинства исследованных видов агарикоидных базидиомицетов было выявлено уменьшение показателей общей численности бактерий по сравнению с контролем, а в гифосфере большинства исследованных видов афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов было выявлено увеличение показателей общей численности бактерий по сравнению с контролем.

1.2. Определение общей численности и потенциальной жизнеспособности бактерий прямым микроскопическим методом

Появившиеся в последнее время флюоресцентные красители, к которым относится L7012 (*LIVE/DEAD*), позволяют оценить не только численность бактерий, но потенциальную жизнеспособность бактериальных клеток по степени повреждения мембраны (Molecular Probes, 1994). Изучение потенциальной жизнеспособности бактерий в образцах гифосферы базидиомицетов

представителей разных морфологических групп: агарикоидные (*Clitocybe nebularis*, *Gymnopus confluens*, *Hebeloma sordidum*), афиллофороидные *Clavariadelphus ligula*, гастероидные, *Lycoperdon perlatum*, – проводилось при помощи красителя *LIVE/DEAD*. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Общая численность бактерий (млрд. клеток/г) и доля потенциально жизнеспособных клеток в исследованных образцах почвы (%).

Образец		Общая численность бактерий	Доля потенциально жизнеспособных клеток бактерий, %
<i>Clitocybe nebularis</i>	гифосфера	1,13 ± 0,1	35
	контроль	4,79 ± 0,5	60
<i>Gymnopus confluens</i>	гифосфера	2,37 ± 0,2	34
	контроль	4,79 ± 0,5	60
<hr/>			
<i>Clavariadelphus ligula</i>	гифосфера	1,97 ± 0,2	60
	контроль	0,78 ± 0,1	50
<i>Hebeloma sordidum</i>	гифосфера	0,78 ± 0,1	65
	контроль	0,62 ± 0,05	56
<i>Lycoperdon perlatum</i>	гифосфера	1,37 ± 0,1	66
	контроль	0,62 ± 0,1	55

Как видно из таблицы 1, закономерности изменения показателей общей численности бактерий в исследуемых образцах гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы были аналогичны тем, которые были выявлены при окрашивании почвенной суспензии акридином оранжевым. Так, общая численность бактерий в гифосфере *Clitocybe nebularis*, *Gymnopus confluens* была ниже, чем в контроле, а в гифосфере *Clavariadelphus ligula* и *Lycoperdon perlatum* была выше, чем в контроле.

В гифосфере агарикоидных базидиомицетов *Clitocybe nebularis* и *Gymnopus confluens* общая численность бактерий была ниже, чем в контроле в 2,0–4,2 раза и изменялась от 1,1 до 2,4 млрд. клеток/г. Причем, наибольшее уменьшение

показателей общей численности бактерий в гифосфере по сравнению с контролем было выявлено для *Clitocybe nebularis*.

В гифосфере базидиомицетов *Clavariadelphus ligula*, *Hebeloma sordidum*, *Lycoperdon perlatum* показатели общей численности бактерий были выше, чем в контроле в 1,3–2,5 раза и колебались от 0,78 до 1,97 млрд. клеток/г. Причем, наибольшее увеличение показателей общей численности бактерий в гифосфере по сравнению с контролем было выявлено для *Clavariadelphus ligula* и *Lycoperdon perlatum* – соответственно в 2,5 и 2,2 раза.

Изучение потенциальной жизнеспособности бактерий показало, что у тех видов базидиомицетов, у которых наблюдалось снижение показателей общей численности бактерий в гифосфере по сравнению с контролем (*Clitocybe nebularis* и *Gymnoporus confluens*), выявлено более низкое содержание потенциально жизнеспособных клеток бактерий, 35-34% - в гифосфере и 60% - в контроле. В гифосфере тех базидиомицетов, у которых наблюдалось увеличение показателей общей численности бактерий по сравнению с контролем (*Clavariadelphus ligula*, *Hebeloma sordidum*, *Lycoperdon perlatum*), содержание потенциально жизнеспособных клеток бактерий было в 1,3 раза выше, чем в контроле (60-66% в гифосфере, 50-56% в контроле).

Таким образом, исследованные базидиомицеты по характеру действия на бактерии можно поделить на две группы. Так, у базидиомицетов первой группы (*Clitocybe nebularis*, *Gymnoporus confluens*), в гифосфере наблюдались более низкие показатели общей численности бактерий и содержания потенциально жизнеспособных клеток бактерий по сравнению с контролем, что может быть связано с негативным влиянием грибных метаболитов на бактерии. У базидиомицетов второй группы (*Hebeloma sordidum*, *Clavariadelphus ligula*, *Lycoperdon perlatum*), в гифосфере наблюдались более высокие показатели общей численности бактерий и доли потенциально жизнеспособных клеток.

1.3. Численность сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов

Сапротрофные аэробные и факультативно-анаэробные бактерии являются важной составляющей сапротрофного блока почвенных бактерий и принимают непосредственное участие в процессах трансформации соединений углерода и азота в почвах (Добровольская, 2002). Численность сапротрофных бактерий в образцах гифосферы базидиомицетов определяли методом посева бактерий на глюкозо-пептонно-дрожжевую (ГПД) среду, которая позволяет выделить более 40 родов аэробных и факультативно анаэробных почвенных бактерий.

Были исследованы бактериальные сообщества гифосферы 32 видов базидиомицетов, относящихся к 19 семействам, представленных тремя морфологическими группами: агариикоидные (18 видов), афиллофороидные (8 видов) и гастероидные (6 видов).

Как видно из полученных данных (рисунки 5, 6, 7, 8 и таблица 2 приложения), показатели численности сапротрофных бактерий в гифосфере большинства исследованных видов (22 вида) базидиомицетов были выше, чем в контроле в 1,3-36,2 раза.

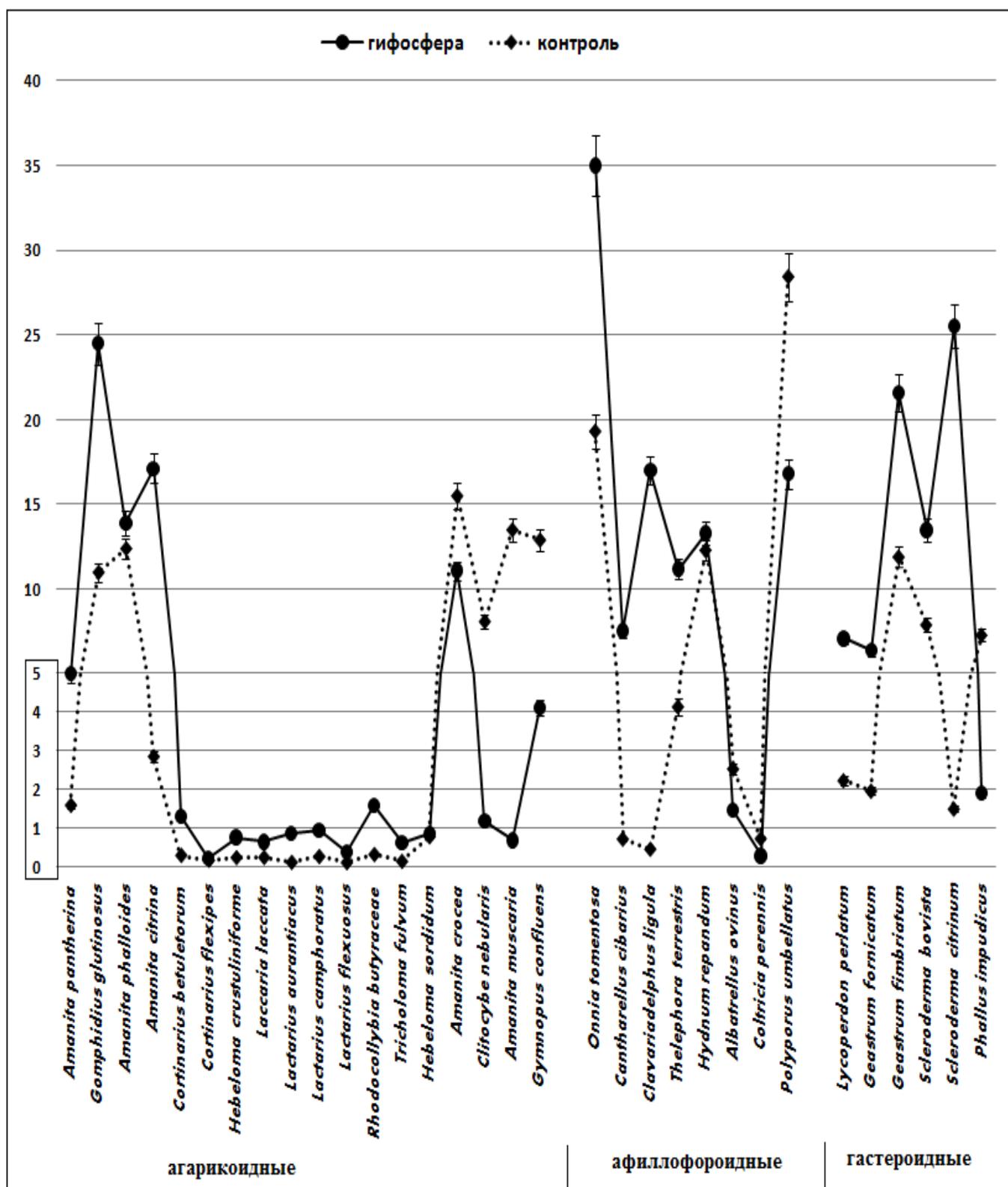


Рисунок 5. Численность сапротрофных бактерий в образцах гифосферы базидиомycетов разных морфологических групп и контрольной почвы, млн. КОЕ/г

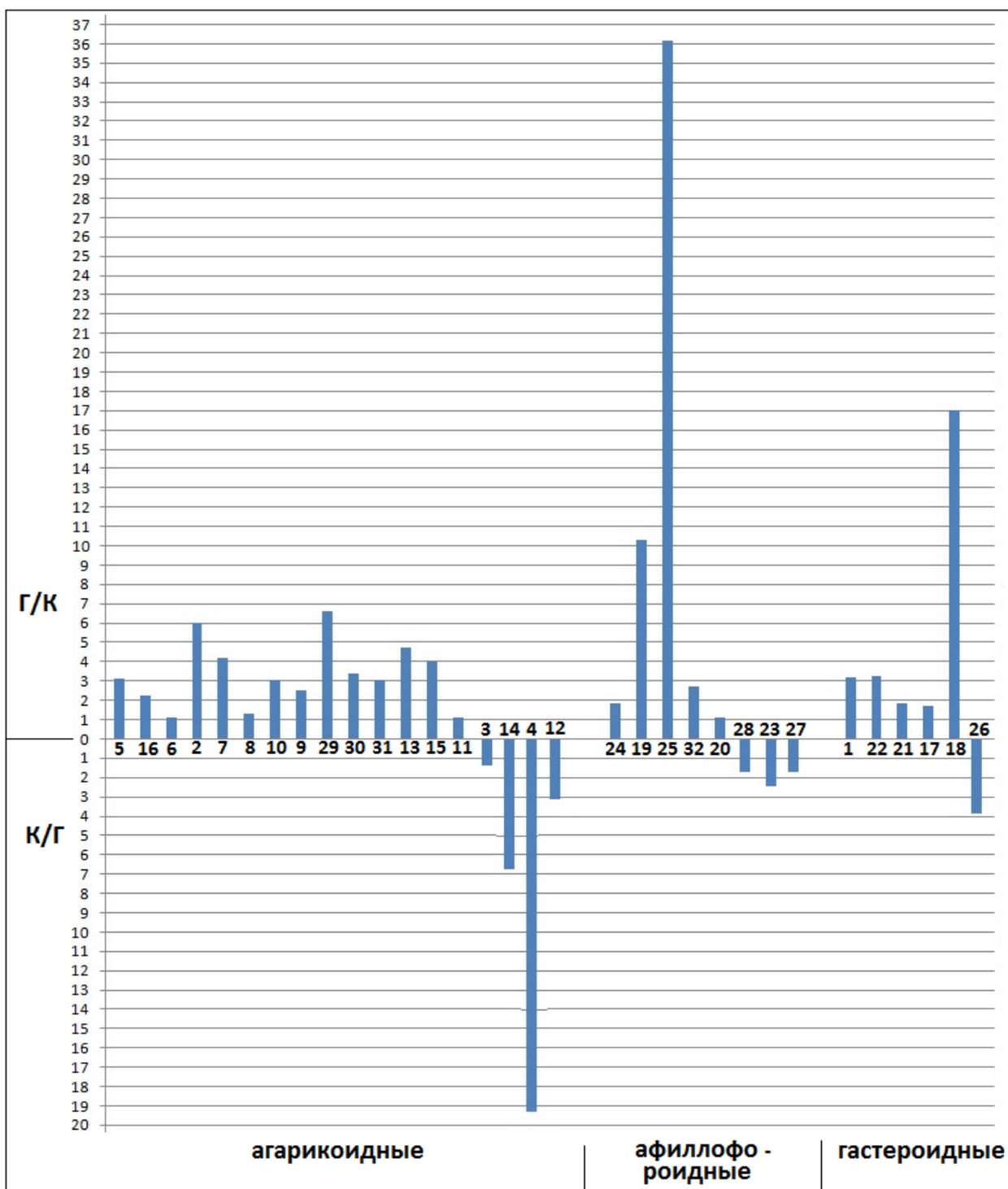


Рисунок 6. Отношение показателей численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере (Г) и контрольной почве (К). Цифрами у столбцов обозначены виды базидиомицетов (см. таблицу 1 на стр. 43-46).

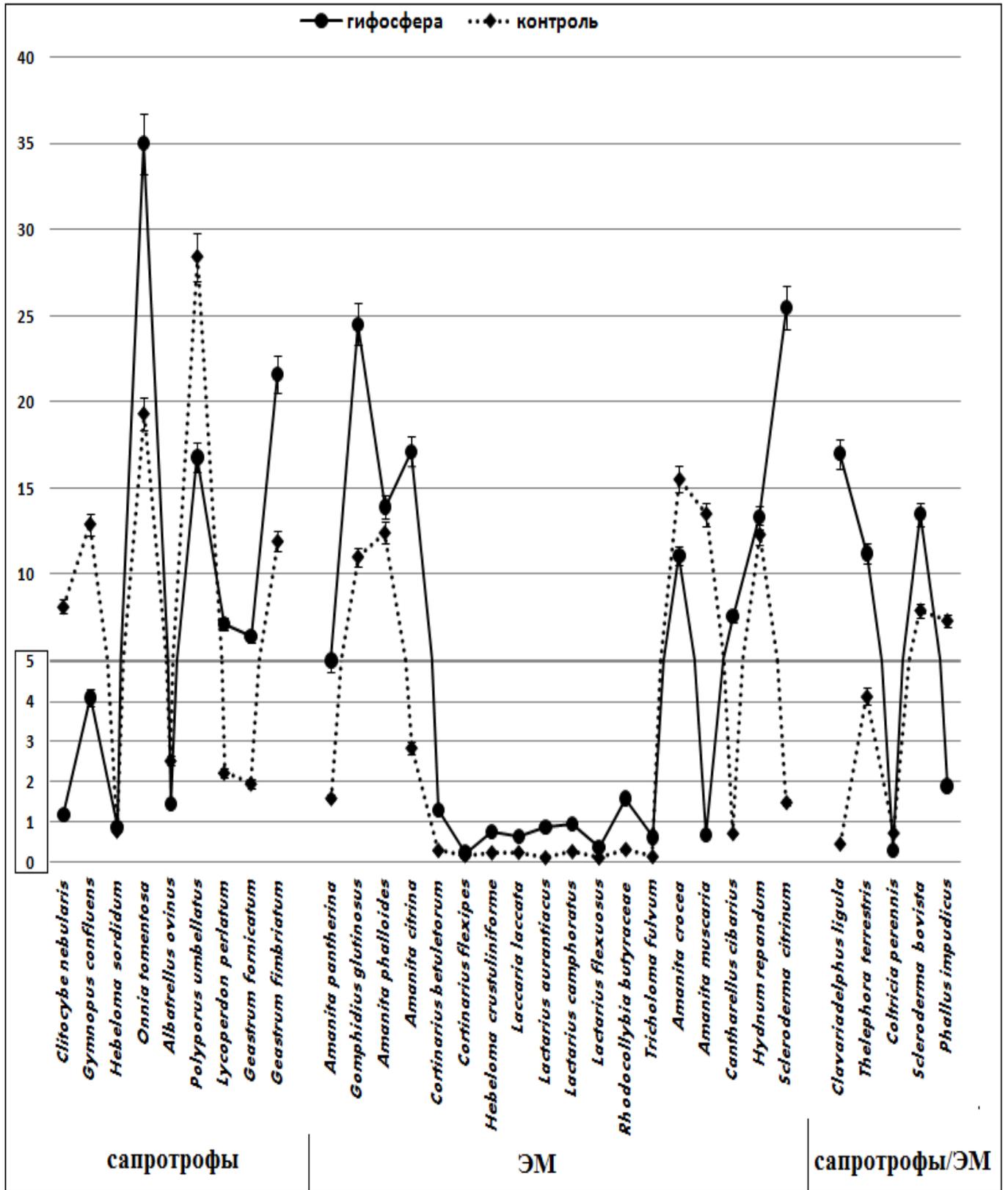


Рисунок 7. Численность сапротрофных бактерий в образцах гифосферы базидиомицетов разных эколого-трофических групп и контрольной почвы, млн. КОЕ/г

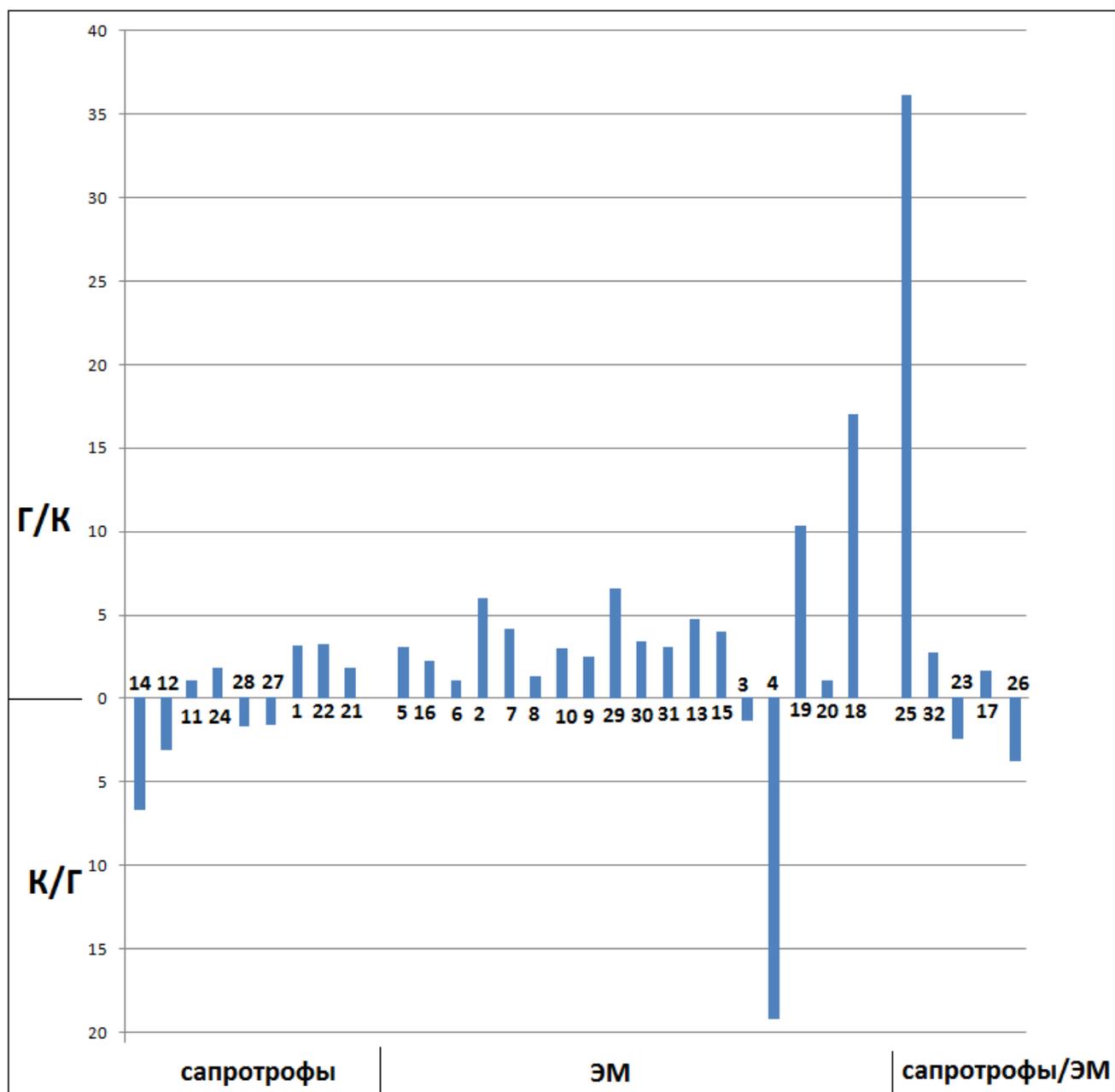


Рисунок 8. Отношение показателей численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере (Г) и контрольной почве (К). Цифрами у столбцов обозначены виды базидиомицетов (см. таблицу 1 на стр. 43-46).

Так, показатели численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере агарикоидных базидиомицетов (18 видов) колебались от 0,2 до 17,1 млн. КОЕ/г. При этом, наибольшие значения были выявлены для ги́фосферы *Gomphidius glutinosus* и *Amanita citrina*. Показатели численности сапротрофных бактерий в контрольной почве колебались от 0,1 до 15,5 млн. КОЕ/г. При этом, для 12 видов агарикоидных базидиомицетов (*Amanita citrina*, *Amanita pantherina*, *Cortinarius*

betuletorum, *C. flexipes*, *Gomphidius glutinosus*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *L. camphoratus*, *L. flexuosus*, *Rhodocollybia butyracea*, *Tricholoma fulvum*) численность сапротрофных бактерий в ги́фосфере была выше, чем в контроле в 1,3-6,6 раза, в ги́фосфере 4 видов базидиомицетов (*Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Clitocybe nebularis*, *Gymnopus confluens*) – ниже, чем в контроле в 1,4-19,3 раза. Показатели численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере и контроле для 2 видов (*Amanita phalloides*, *Hebeloma sordidum*) были примерно равны. Следует отметить, что для *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Clitocybe nebularis*, *Gymnopus confluens* выявлен сходный характер соотношения показателей общей численности бактерий и численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере по сравнению с контролем.

Показатели численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере афиллофороидных базидиомицетов (8 видов) колебались от 0,3 до 35 млн. КОЕ/г. При этом наибольшие значения были выявлены для ги́фосферы *Onnia tomentosa*, а минимальные – для ги́фосферы *Albatrellus ovinus* и *Coltricia perennis*. Показатели численности сапротрофных бактерий в контрольной почве колебались от 0,5 до 28,4 млн. КОЕ/г. При этом, у 5 видов афиллофороидных базидиомицетов (*Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus ligula*, *Hydnum repandum*, *Onnia tomentosa*, *Thelephora terrestris*) численность сапротрофных бактерий в ги́фосфере была выше, чем в контроле в 1,8-36,2 раза, в ги́фосфере 3 видов базидиомицетов (*Albatrellus ovinus*, *Coltricia perennis*, *Polyporus umbellatus*) – ниже, чем в контроле в 1,7-2,5 раза. Следует отметить, что для 7 видов афиллофороидных базидиомицетов (*Albatrellus ovinus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus ligula*, *Coltricia perennis*, *Thelephora terrestris*, *Onnia tomentosa*, *Thelephora terrestris*) выявлен сходный характер изменения показателей общей численности бактерий и численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере, по сравнению с контролем.

Показатели численности сапротрофных бактерий в ги́фосфере гастероидных базидиомицетов (6 видов) колебались от 1,9 до 25,5 млн. КОЕ/г. При этом наибольшие значения были выявлены для ги́фосферы *Geastrum fimbriatum* и *Scleroderma citrinum*, а минимальные – для ги́фосферы *Phallus impudicus*.

Показатели численности сапротрофных бактерий в контрольной почве колебались от 1,5 до 13,3 млн. КОЕ/г. При этом, для 5 видов афиллофороидных базидиомицетов (*Geastrum fimbriatum*, *Geastrum fornicatum*, *Lycoperdon perlatum*, *Scleroderma bovista*, *Scleroderma citrinum*) численность сапротрофных бактерий в гифосфере была выше, чем в контроле в 1,7-3,3 раза, в гифосфере 1 вида базидиомицета (*Phallus impudicus*) – ниже, чем в контроле в 3,8 раза. Следует отметить, что для 4 видов гастероидных базидиомицетов (*Geastrum fornicatum*, *Lycoperdon perlatum*, *Phallus impudicus*, *Scleroderma bovista*) выявлен схожий характер изменения показателей общей численности бактерий и численности сапротрофных бактерий в гифосфере, по сравнению с контролем.

Анализ численности сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов разных экологических групп (сапротрофы, микоризообразователи, сапротрофы/микоризообразователи) показал, что численность сапротрофных бактерий в гифосфере большинства исследованных видов базидиомицетов всех экологических групп была выше, чем в контроле (рисунки 7, 8).

Таким образом, для большинства видов агарикоидных (12 из 18), афиллофороидных (5 из 8) и гастероидных (5 из 6) базидиомицетов выявлено увеличение показателей численности сапротрофных бактерий в гифосфере по сравнению с контролем. При этом, направленность характера изменения показателей численности сапротрофных бактерий в гифосфере по сравнению с контролем была такой же, как и для показателей общей численности бактерий только для 16 (из 32) видов базидиомицетов.

1.4. Характеристика таксономической структуры сапротрофных бактериальных комплексов в гифосфере базидиомицетов

Структура сапротрофного бактериального комплекса является важной характеристикой почвенных местообитаний, связанных с воздействием растений или, в нашем случае, разрастаний гиф базидиомицетов в почве. Структура сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы базидиомицетов,

принадлежащих к разным семействам и морфологическим группам, была изучена с использованием критериев, разработанных на кафедре биологии почв (Добровольская, 2002). Полученные результаты представлены в табл. 3 приложения.

Были исследованы бактериальные комплексы контрольной почвы и гифосферы 32 видов базидиомицетов, относящихся к трем морфологическим группам: агариикоидные (18 видов), афиллофороидные (8) и гастероидные (6 видов) базидиомицеты.

Из исследованных почвенных образцов, отобранных в гифосфере и контроле, на ГПД среде были выделены и идентифицированы 934 штамма бактерий, отнесенные на основании изучения фенотипических признаков к 27 родам бактерий, широко представленным в почве: *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Methylobacterim*, *Janthinobacterium*, *Spirillum*, *Chromobacterium*, *Aquaspirillum*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Erwinia*, *Plesiomonas*, *Muxococcus*, *Polyangium*.

Как видно из полученных данных (табл. 3 приложения), у большинства видов агариикоидных базидиомицетов (12 из 18) в гифосфере преобладают грамположительные бактерии, доля которых изменяется от 64 до 100%. У четырех видов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita phalloides*, *Gomphidius glutinosus*) в гифосфере преобладают грамотрицательные бактерии, доля которых составляет 73,5 – 91,7%. В гифосфере двух видов (*Amanita pantherina*, *Gymnopus confluens*) содержание грамотрицательных и грамположительных бактерий были примерно равны.

В контрольной почве в основном преобладают грамположительные бактерии (16 из 18 образцов), содержание которых изменяется от 54,4 до 100%.

Следует отметить, что у 5 видов агариикоидных базидиомицетов (*Amanita muscaria*, *Clitocybe nebularis*, *Gomphidius glutinosus*, *Hebeloma sordidum*, *Tricholoma fulvum*) в гифосфере доля грамположительных бактерий выше, чем в

контроле в 1,2-1,8 раз. В ги́фосфере 8 видов агарикоидных базидиомицетов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita pantherina*, *Amanita phalloides*, *Gymnopus confluens*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *Rhodocollybia butyracea*) доля грамотрицательных бактерий выше, чем в контроле в 1,2-6,8 раз. У 5 видов соотношения долей грамотрицательных и грамположительных бактерий в ги́фосфере по сравнению с контролем практически не меняются.

В ги́фосфере большинства видов афиллофороидных базидиомицетов (6 из 8) преобладают грамположительные бактерии, доля которых изменяется от 55 до 91,8%. В ги́фосфере *Albatrellus ovinus* и *Clavariadelphus ligula* содержание грамположительных и грамотрицательных бактерий примерно равны.

В контрольной почве во всех образцах доминируют грамположительные бактерии (от 69,3 до 98%).

При этом, в ги́фосфере 3-х видов афиллофороидных базидиомицетов (*Albatrellus ovinus*, *Clavariadelphus ligula*, *Onnia tomentosa*) содержание грамотрицательных бактерий выше, чем в контроле в 1,2-1,9 раз. У остальных видов (5 видов) доли грамположительных и грамотрицательных бактерий в ги́фосфере и контроле примерно равны.

В ги́фосфере большинства видов гастероидных базидиомицетов (4 из 6) преобладают грамположительные бактерии, доля которых составляет 58,3-96,4%, а в ги́фосфере *Lycoperdon perlatum* и *Scleroderma bovista* доли грамположительных и грамотрицательных бактерий примерно равны.

В контрольной почве большинства образцов (5 из 6) доминируют грамположительные бактерии, доля которых изменяется от 74,3 до 90,3%, а в одном образце доминируют грамотрицательные бактерии, доля которых составляет 95,6%.

В ги́фосфере 3-х видов гастероидных базидиомицетов (*Lycoperdon perlatum*, *Phallus impudicus*, *Scleroderma bovista*) доля грамотрицательных бактерий выше, чем в контроле в 1,4-1,8 раз, а в ги́фосфере *Geastrum fimbriatum* доля грамположительных бактерий выше, чем в контроле в 19,5 раз. В ги́фосфере

остальных видов доли грамположительных и грамотрицательных бактерий практически не изменяются по сравнению с контролем.

Таким образом, в гифосфере большинства исследованных видов агарикоидных (12 из 18), афиллофороидных (6 из 8) и гастероидных (4 из 6) базидиомицетов выявлено доминирование грамположительных бактерий, а в гифосфере 4 видов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita phalloides*, *Gomphidius glutinosus*) – грамотрицательных. При этом, только у 6 видов базидиомицетов (5 агарикоидных, 1 гастероидный) в гифосфере по сравнению с контролем доля грамположительных бактерий была выше, а в гифосфере 14 видов (8 агарикоидных, 3 афиллофороидных, 3 гастероидных) – выше доля грамотрицательных бактерий.

Анализ структуры сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы базидиомицетов разных экологических групп показал, что в гифосфере большинства видов базидиомицетов разных экологических групп доминируют грамположительные бактерии: у 13 из 18 видов микоризообразователей, 6 из 9 сапротрофов, 3 из 5 сапротрофов/микоризообразователей.

При этом, у 14 видов базидиомицетов (7 эктомикоризообразователей, 4 сапротрофных, 3 сапротрофов/микоризообразователей) доля грамотрицательных бактерий в гифосфере была выше, чем в контроле, а у 6 видов базидиомицетов (3 сапротрофных 3 сапротрофов/микоризообразователей) доля грамположительных бактерий в гифосфере была выше, чем в контроле.

Для характеристики структуры сапротрофного бактериального комплекса исследуемых образцов гифосферы и контрольной почвы выделялись следующие группы сапротрофных бактерий по относительному обилию отдельных родов бактерий в бактериальном комплексе: доминанты (относительное обилие выше 30%), субдоминантами (относительное обилие 20-30%), группа среднего обилия (10-20%), минорные компоненты (относительное обилие менее 10%) (Добровольская, 2002).

Как видно из рисунка 9, в гифосфере 18 изученных видов агарикоидных базидиомицетов (*Gomphidius glutinosus*, *Hebeloma sordidum*, *Clitocybe nebularis*,

Gymnopus confluens, *Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita phalloides*, *Cortinarius betuletorum*, *C. flexipes*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *L. camphoratus*, *L. flexuosus*, *Rhodocollybia butyracea*, *Tricholoma fulvum*, *Amanita muscaria* – усредненные данные) доминируют бактерии рода *Bacillus*. Группа субдоминантов отсутствует, группа среднего обилия представлена родом *Pseudomonas*, а группу минорных компонент входят 17 родов бактерий (*Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Janthilobacterium*, *Aquaspirillum*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Myxococcus*, *Polyangium*).

В контрольной почве доминируют бактерии рода *Bacillus*, субдоминанты и группа среднего обилия отсутствуют, а группу минорных компонент составляют 19 родов бактерий (*Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Methylobacterim*, *Janthilobacterium*, *Chromobacterium*, *Aquaspirillum*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Myxococcus*, *Polyangium*).

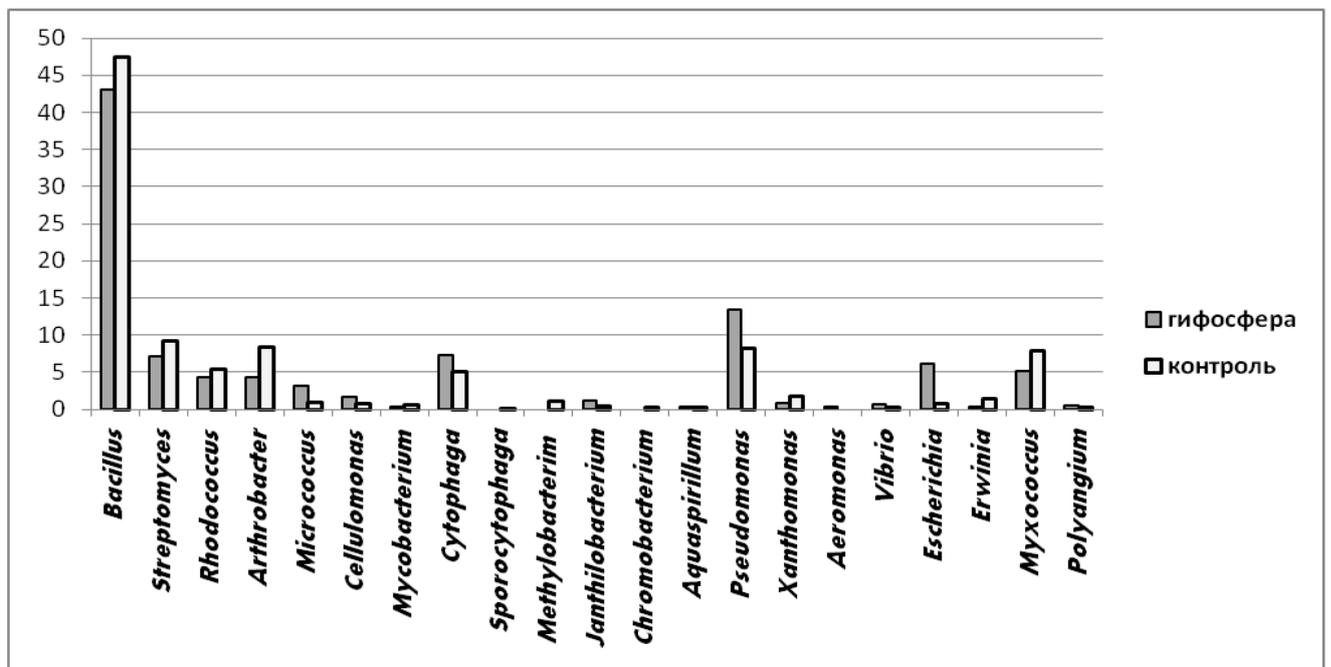


Рисунок 9. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере агарикоидных базидиомицетов и контрольной почве (усредненные данные для 18 видов), в %.

Таким образом, структура сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы агарикоидных базидиомицетов и контрольной почвы довольно близки.

В гифосфере (рисунок 10) афиллофороидных базидиомицетов (усредненные данные для 8 видов: *Albatrellus ovinus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus ligula*, *Coltricia perennis*, *Hydnum repandum*, *Onnia tomentosa*, *Thelephora terrestris*, *Polyporus umbellatus*) доминантов нет, субдоминанты представлены бактериями родов *Streptomyces* и *Arthrobacter*, группу среднего обилия составляют роды *Bacillus*, *Мухосoccus*, а группу минорных компонентов составляют 12 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Spirillum*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Erwinia*, *Polyangium*).

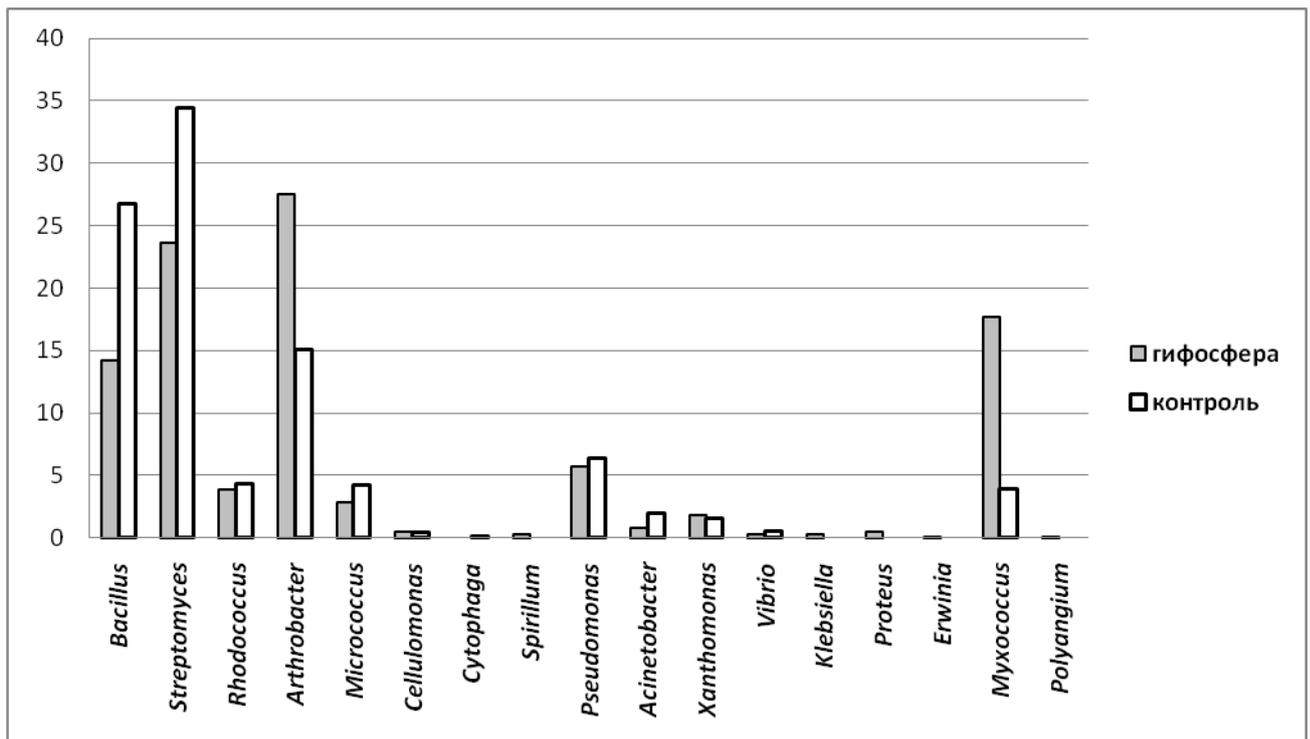


Рисунок 10. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере афиллофороидных базидиомицетов и контрольной почве (усредненные данные для 8 видов), в %.

В контрольной почве доминируют стрептомицеты, субдоминанты представлены родом *Bacillus*, группа среднего обилия – родом *Arthrobacter*, группу минорных компонент составляют 9 родов бактерий (*Streptomyces*,

Rhodococcus, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Мухосoccus*).

В гифосфере (рисунок 11) гастероидных базидиомицетов (усредненные данные для 6 видов: *Geastrum fornicatum*, *Geastrum fimbriatum*, *Lycoperdon perlatum*, *Phallus impudicus*, *Scleroderma citrinum*, *Scleroderma bovista*) доминируют бактерии рода *Arthrobacter*, субдоминанты отсутствуют, а группу среднего обилия составляют бактерии рода *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, а в группу минорных компонент входят 15 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Janthilobacterium*, *Spirillum*, *Aquaspirillum*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Erwinia*, *Мухосoccus*, *Polyangium*).

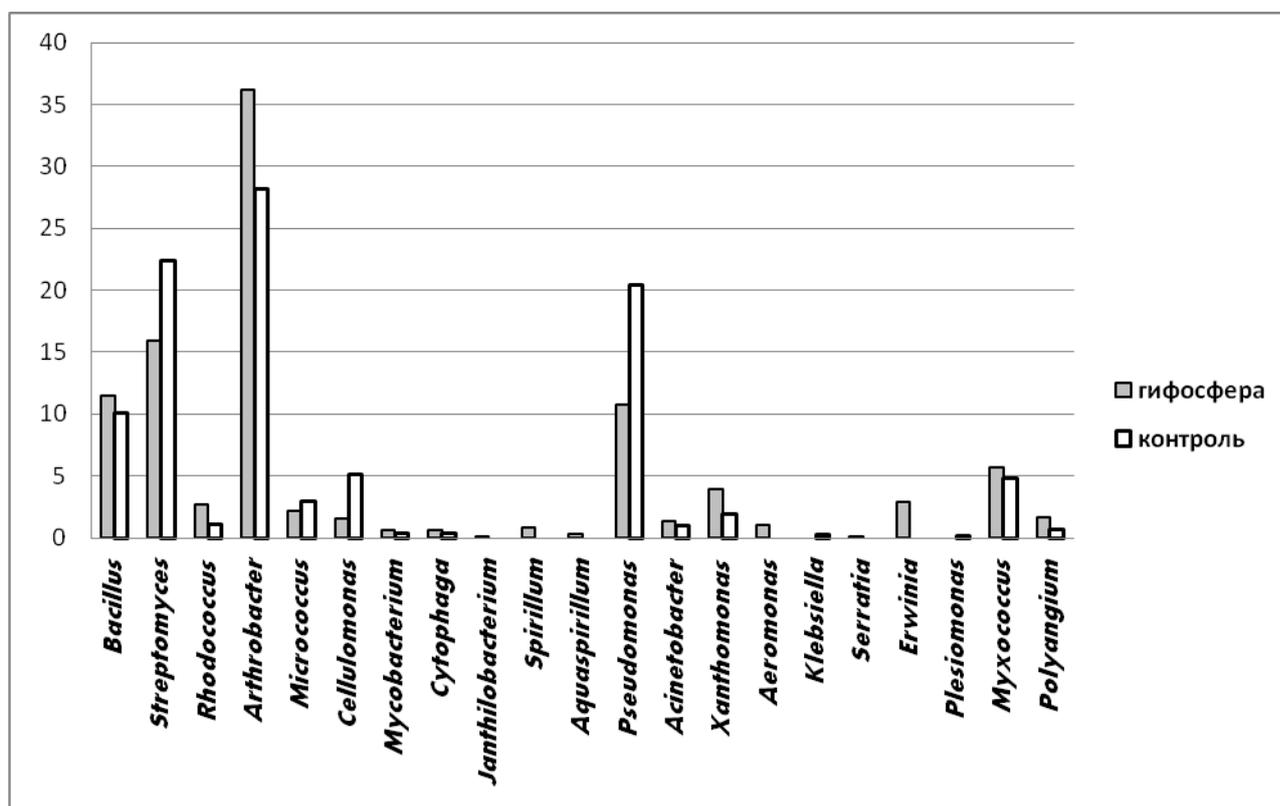


Рисунок 11. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере гастероидных базидиомицетов и контрольной почве (усредненные данные для 6 видов), в %.

В контрольной почве доминантов нет, субдоминанты представлены родами *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, группа среднего обилия – родом *Bacillus*, в группу минорных компонент входят 11 родов (*Rhodococcus*, *Micrococcus*,

Cellulomonas, Mycobacterium, Cytophaga, Acinetobacter, Xanthomonas, Klebsiella, Plesiomonas, Myxococcus, Polyangium).

Таким образом, сапротрофные бактериальные комплексы гифосферы гастероидных и афиллофороидных базидиомицетов проявляют значительное сходство между собой (рисунок 12).

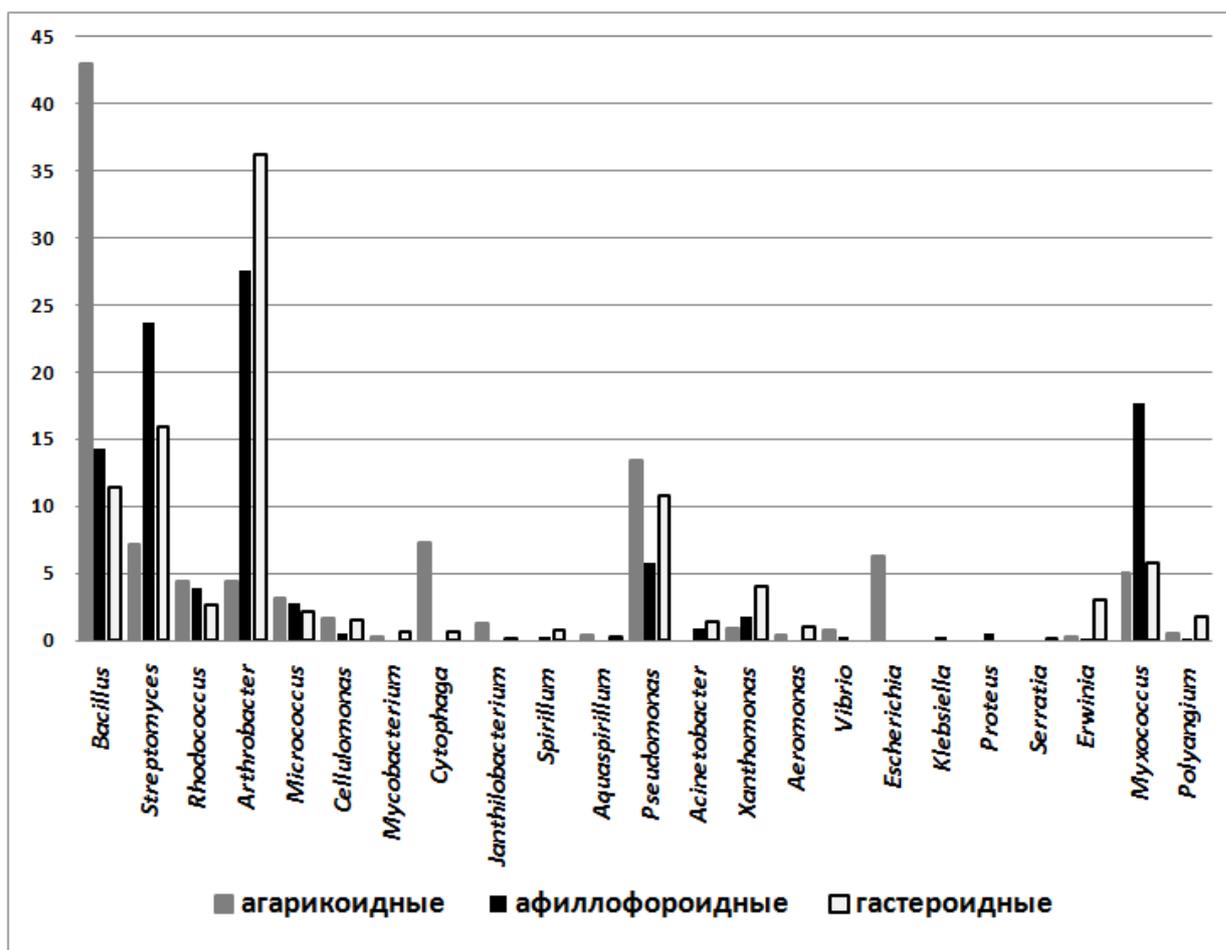


Рисунок 12. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов разных морфологических групп и контрольной почве, в %.

Был проведен анализ бактериальных комплексов гифосферы базидиомицетов разных экологических групп: сапротрофы, микоризообразователи и сапротрофы/микоризообразователи.

Анализ бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы (рисунок 13) сапротрофных базидиомицетов (усредненные данные для 9 видов: *Hebeloma sordidum, Clitocybe nebularis, Gymnopus confluens, Onnia tomentosa,*

Albatrellus ovinus, *Polyporus umbellatus*, *Geastrum fornicatum*, *Geastrum fimbriatum*, *Lycoperdon perlatum*) показал, что в гифосфере доминанты отсутствуют, субдоминанты представлены родом *Arthrobacter*, группа среднего обилия – родами *Bacillus*, *Streptomyces*, *Мухосoccus*, а группа минорных компонент родами *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Janthinobacterium*, *Spirillum*, *Aquaspirillum*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Erwinia*, *Polyangium*.

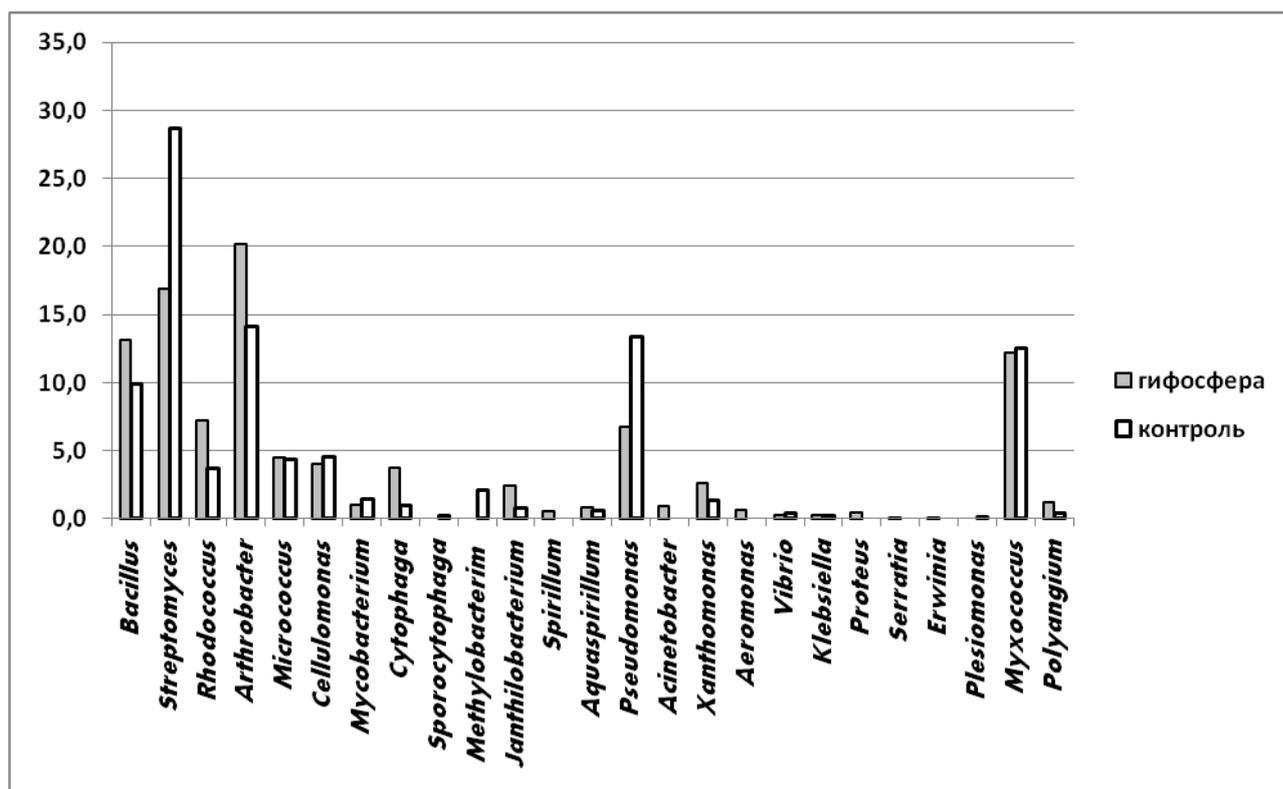


Рисунок 13. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере сапротрофных базидиомицетов и контрольной почве (усредненные данные для 9 видов), в %.

В образцах контрольной почвы группа доминантов отсутствует, субдоминанты представлены родом *Streptomyces*, группа среднего обилия – родами *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Мухосoccus*, а группа минорных компонент родами *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Methylobacterim*, *Janthinobacterium*, *Aquaspirillum*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Plesiomonas*, *Polyangium*).

В гифосфере базидиомицетов-микоризообразователей (рисунок 14) (усредненные данные для 18 видов: *Amanita citrina*, *A. crocea*, *A. muscaria*, *A. pantherina*, *A. phalloides*, *Cortinarius betuletorum*, *C. flexipes*, *Gomphidius glutinosus*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius aurantiacus*, *L. camphoratus*, *L. flexuosus*, *Rhodocollybia butyracea*, *Tricholoma fulvum*, *Cantharellus cibarius*, *Hydnum repandum*, *Scleroderma citrinum*) доминируют бациллы, субдоминанты отсутствуют, группа среднего обилия представлена родами *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, а группу минорных компонент составляют 12 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Janthinobacterium*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Mycococcus*, *Polyangium*).

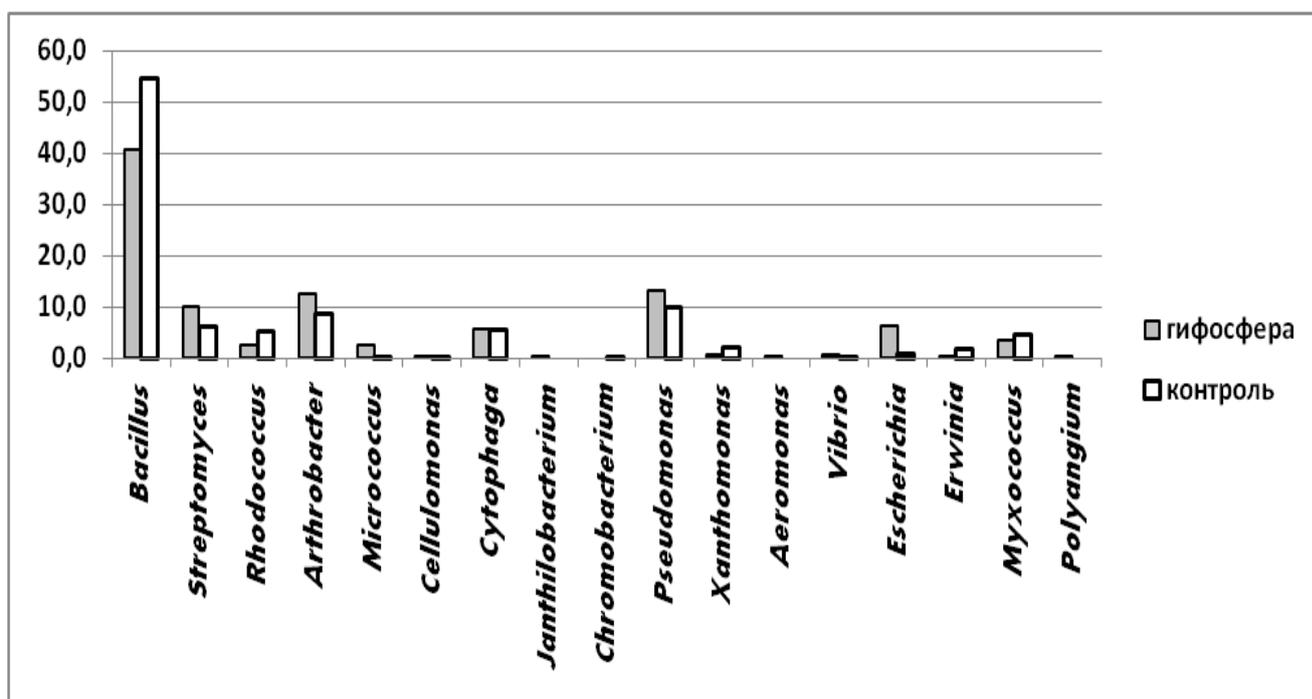


Рисунок 14. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов микоризообразователей и контрольной почве (усредненные данные для 18 видов), в %.

В контрольной почве доминируют бациллы, субдоминантов и группы среднего обилия нет, а группу минорных компонент составляют 12 родов бактерий (*Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Mycococcus*).

В гифосфере базидиомицетов сапротрофов/микоризообразователей (рисунок 15) (усредненные данные для 5 видов: *Clavariadelphus ligula*, *Coltricia perennis*, *Thelephora terrestris*, *Phallus impudicus*, *Scleroderma bovista*) доминантов нет, субдоминанты представлены родами *Bacillus*, *Arthrobacter*, группу среднего обилия составляют роды *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Мухосoccus*, а в группу минорных компонент входят 8 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Spirillum*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Polyangium*).

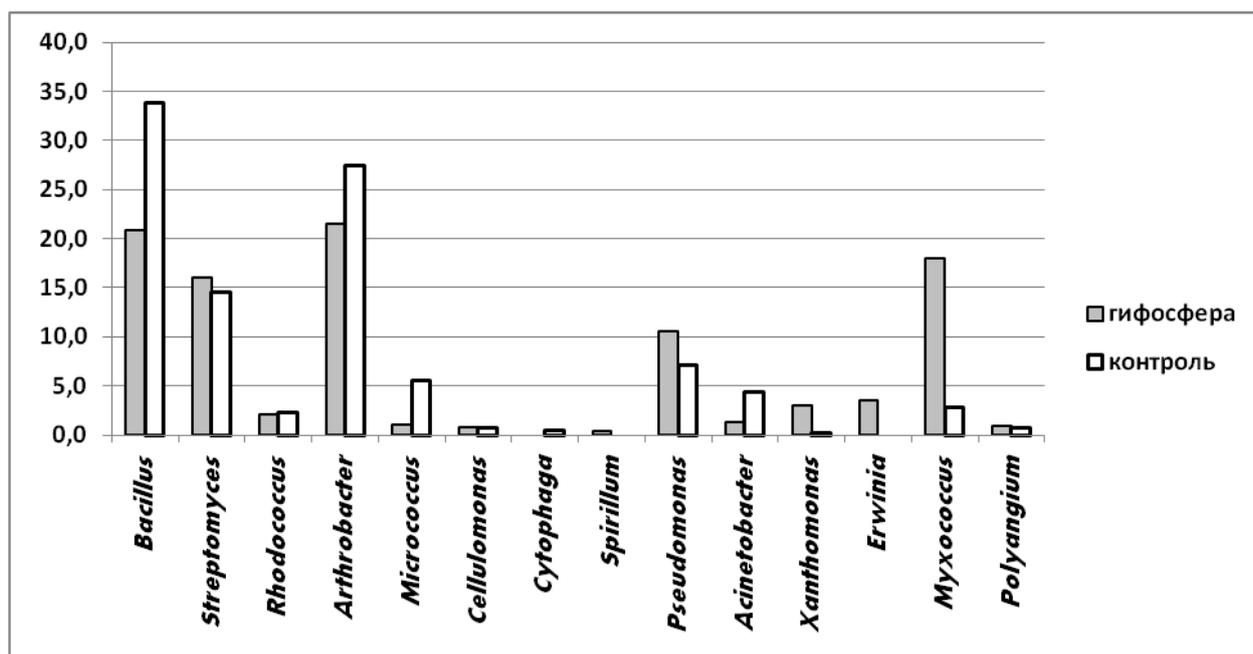


Рисунок 15. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов сапротрофов/микоризообразователей и контрольной почве (усредненные данные для 5 видов), в %.

В контрольной почве доминируют бациллы, субдоминанты представлены родом *Arthrobacter*, группу среднего обилия составляют стрептомицеты, а группа минорных компонент состоит из 9 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Мухосoccus*, *Polyangium*).

Таким образом, сапротрофные бактериальные комплексы гифосферы базидиомицетов сапротрофов и сапротрофов/ЭМ проявляют большее сходство (рисунок 16).

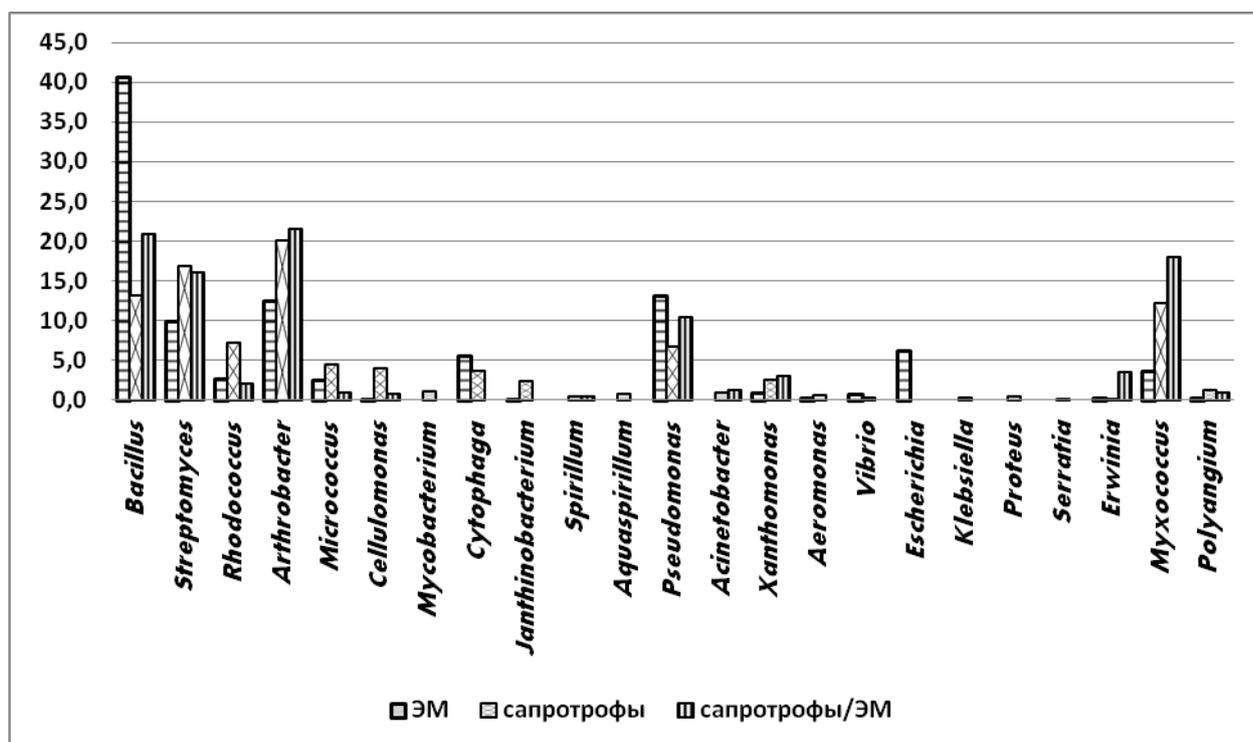


Рисунок 16. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в гифосфере базидиомицетов разных экологических групп, в %.

Математическая обработка данных методом главных компонент выявила (рисунок 17) значительное сходство бактериальных комплексов гифосферы, принадлежащих к разным морфологическим и эколого-трофическим группам. Бактериальные комплексы гифосферы гастероидных и афиллофороидных базидиомицетов образуют компактную область на рисунке, проявляя значительное сходство между собой и отличаясь от агарикоидных базидиомицетов. Бактериальные комплексы агарикоидных базидиомицетов образуют две области распределения на рисунке, одна из которых четко отделена от других и представлена практически всеми видами-эктомикоризообразователями (за исключением видов рода *Amanita* и *Gomphidius glutinosus*).

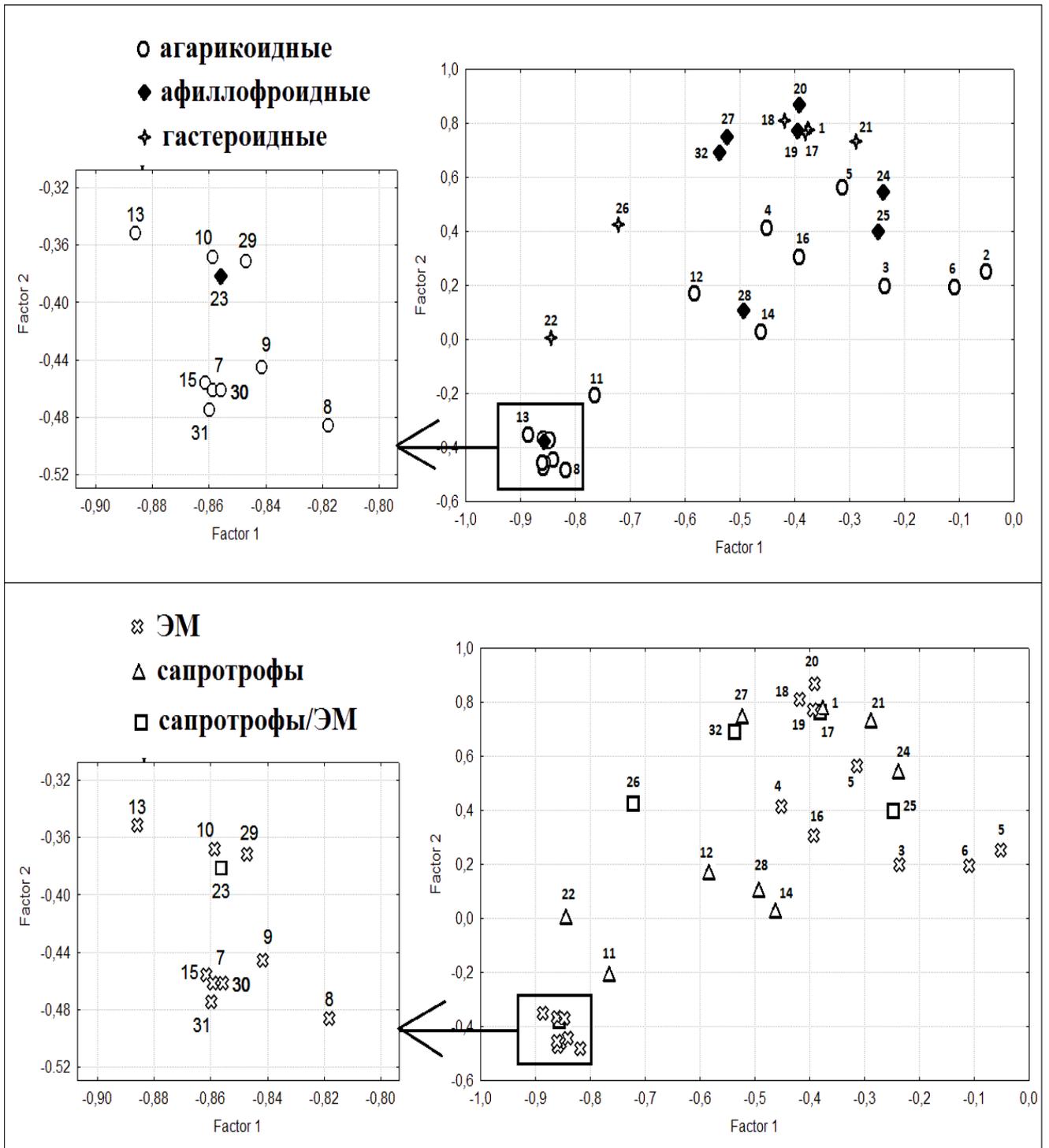


Рисунок 17. Сходство сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы 32 видов базидиомицетов (метод главных компонент). Цифрами обозначены виды базидиомицетов (смотри стр. 43-46).

1.5. Анализ сходства сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы на основании расчета количественного модифицированного коэффициента Серенсена

Сходство бактериальных комплексов гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы оценивалось с помощью количественного модифицированного коэффициента Серенсена (Брея – Кертиса), который учитывает не только родовой состав бактериальных комплексов, но и относительное обилие родов бактерий.

Для 18 видов агарикоидных базидиомицетов значения S_s изменялись от 0,18 до 0,98 (рисунок 18), при этом, наибольшие значения S_s были выявлены у 4 видов – *Gomphidius glutinosus* (0,89), *Cortinarius betuletorum* (0,88), *Lactarius camphoratus* (0,98) и *Lactarius flexuosus* (0,88). Это свидетельствует о значительном сходстве сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы у данных 4 видов агарикоидных базидиомицетов. Только у *Amanita crocea* выявлены существенные различия в сапротрофных бактериальных комплексах гифосферы и контрольной почвы, что характеризовалось значением S_s 0,18.

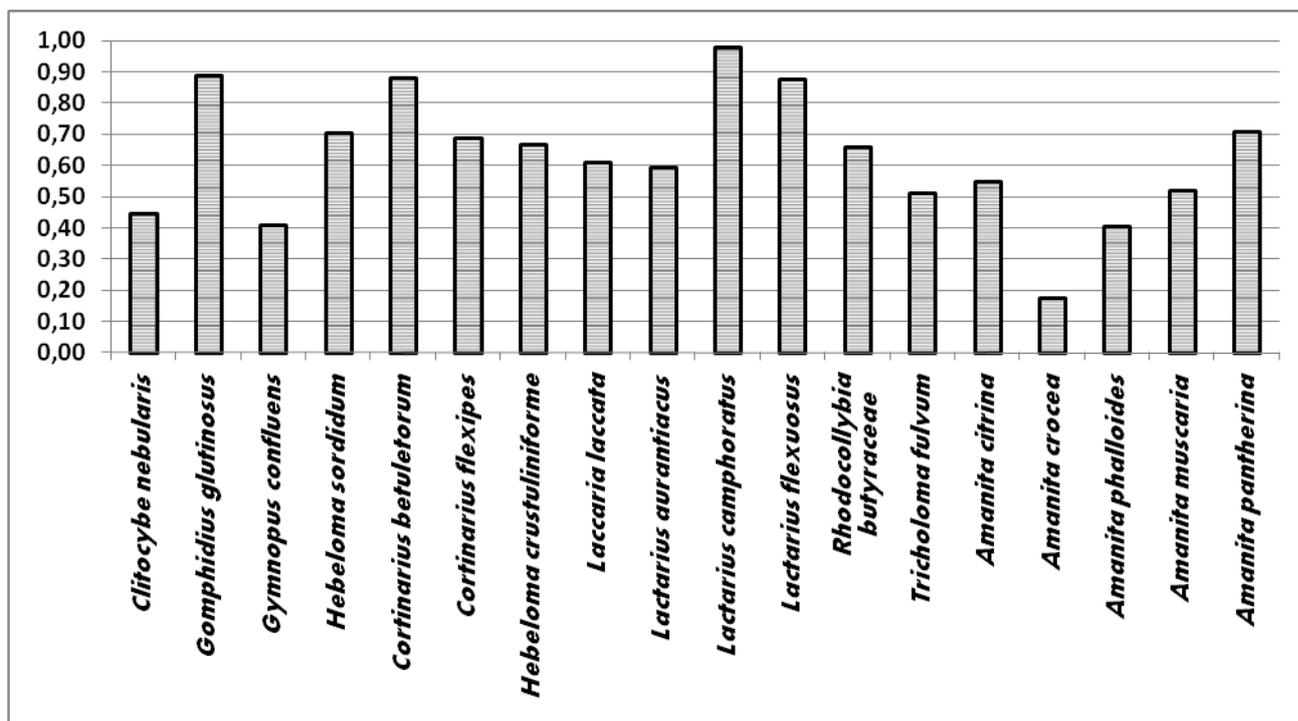


Рисунок 18. Значения количественного модифицированного коэффициента Серенсена для агариикоидных базидиомицетов.

Для 6 видов гастероидных базидиомицетов значения S_s изменялись от 0,05 до 0,67 (рисунок 19), что свидетельствует (за исключением *Scleroderma bovista*) о незначительных различиях в бактериальных комплексах гифосферы и контрольной почвы. Существенные различия были выявлены только для *Scleroderma bovista*, у которого S_s был равен 0,05.

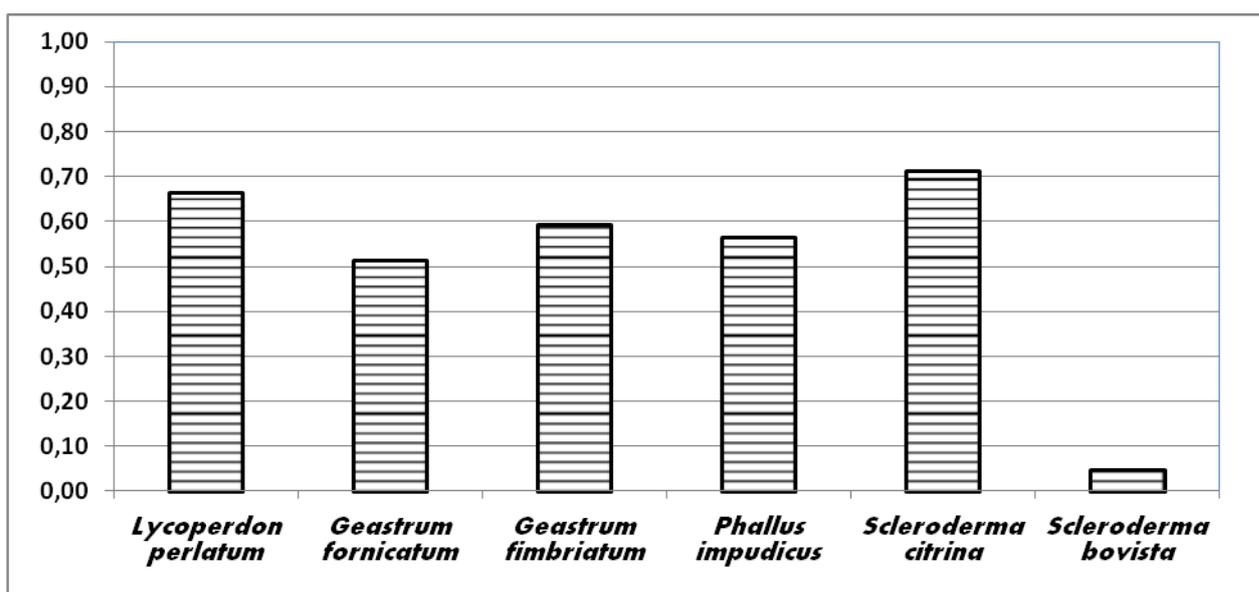


Рисунок 19. Значения количественного модифицированного коэффициента Серенсена для гастероидных базидиомицетов.

Для 8 видов афиллофороидных базидиомицетов значения S_s изменялись от 0,20 до 0,79 (рисунок 20), что также в целом свидетельствует о незначительных различиях в бактериальных комплексах гифосферы и контрольной почвы. Исключениями здесь являются *Albatrellus ovinus* и *Clavariadelphus ligula*, у которых S_s принимал значения 0,29 и 0,20 соответственно.

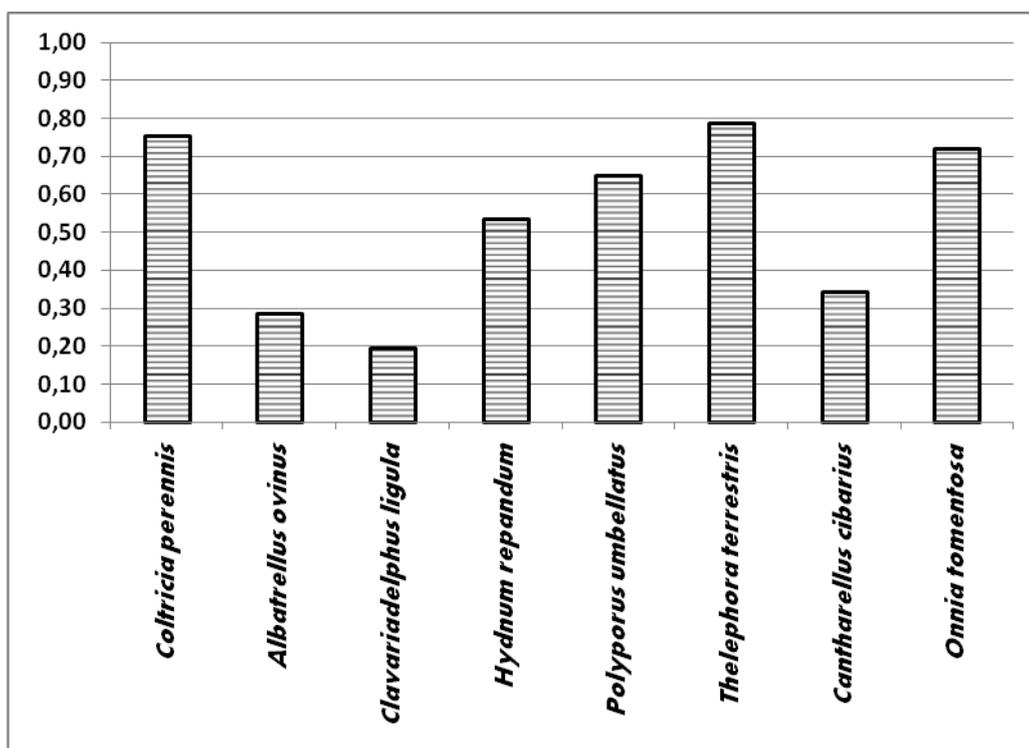


Рисунок 20. Значения количественного модифицированного коэффициента Серенсена для афиллофороидных базидиомицетов.

Таким образом, на основании расчета модифицированного коэффициента Серенсена у большинства изученных видов базидиомицетов (28 из 32) выявлено значительное сходство структуры сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы. Для 4 видов базидиомицетов (*Amanita crocea*, *Scleroderma bovista*, *Albatrellus ovinus* и *Clavariadelphus ligula*) выявлены более значительные различия структуры бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы.

1.6. Изучение таксономического состава бактерий гифосферы методом *fluorescence in situ hybridisation (FISH)*

Численность отдельных филогенетических групп прокариот, которые трудно или невозможно учесть методом посева, оценивали с помощью метода FISH для трех видов сапротрофных базидиомицетов, относящихся к двум морфологическим группам: агарикоидные (*Clitocybe nebularis*, *Gymnoporus confluens*) и гастероидные (*Lycoperdon perlatum*), где наблюдалось разное

соотношение численности и жизнеспособности бактерий в гифосфере и контрольной почве.

В результате проведенного анализа (рисунок 21) среди бактерий, обитающих в гифосфере *Clitocybe nebularis*, *Lycoperdon perlatum* и контрольной почве были обнаружены представители следующих филогенетических групп: *Alpha*-, *Beta*- и *Gamma*proteobacteria, а также впервые обнаружены представители филумов *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes*, содержание которых различалось у разных видов базидиомицетов.

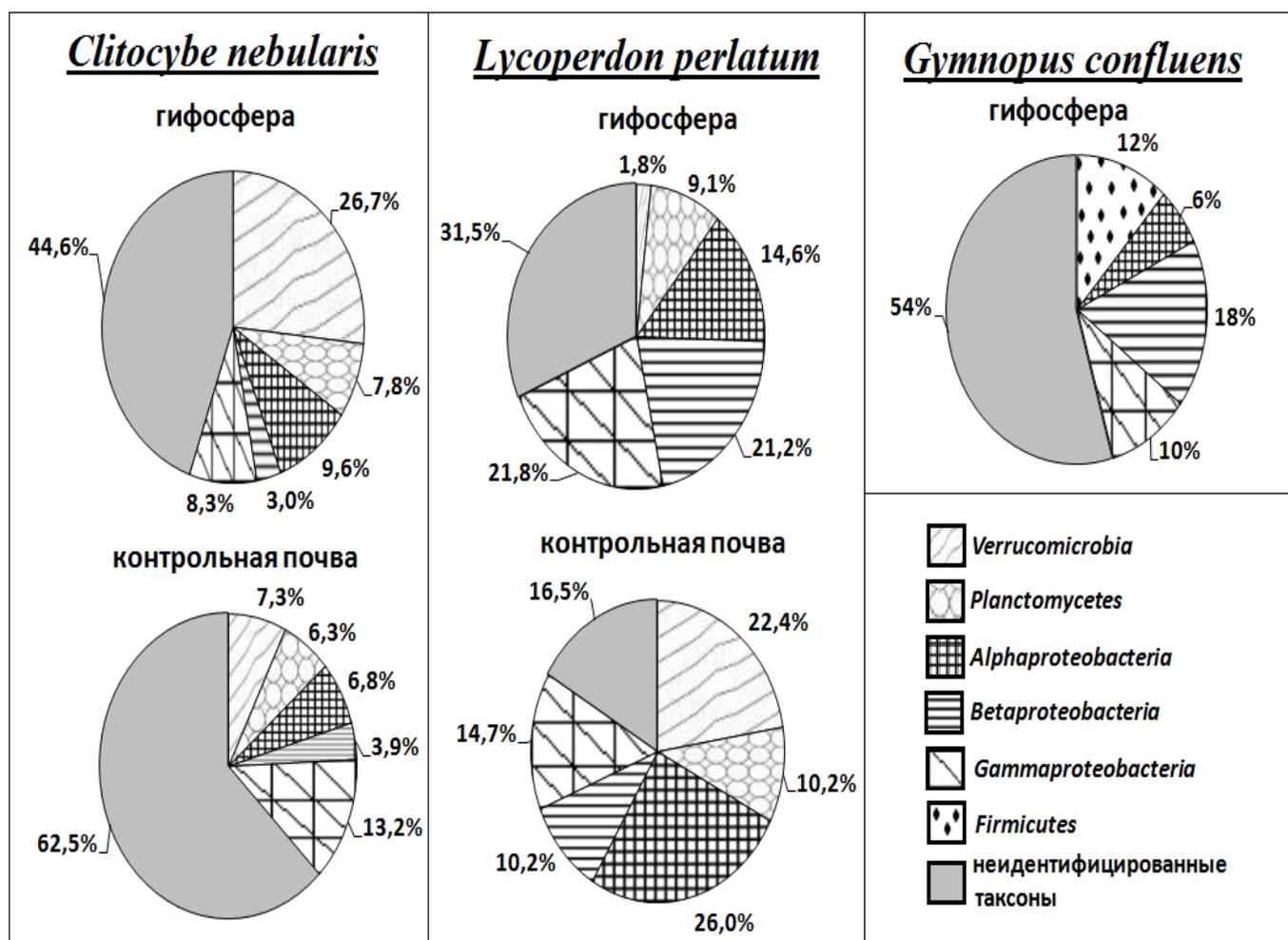


Рисунок 21. Доля отдельных филогенетических групп прокариот (% от числа всех выявленных клеток домена *Bacteria*).

Из полученных данных видно, что в гифосфере *Clitocybe nebularis* содержание филума *Verrucomicrobia*, большинство представителей которого является олиготрофами, была наибольшей и превышало содержание *Gammaproteobacteria* (копиотрофы) в 3,4 раз, а содержание филума

Planctomycetes, а также классов *Alpha-*, *Beta-* и *Gamma*proteobacteria были примерно равны. При этом, в гифосфере *Clitocybe nebularis* по сравнению с контролем происходит значительное увеличение содержания филума *Verrucomicrobia* (в 3,9 раз).

В гифосфере *Lycoperdon perlatum* содержание *Beta-* и *Gamma*proteobacteria было значительным, а содержание филумов *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes*, большинство представителей которых являются олиготрофами, были ниже содержания класса *Gamma*proteobacteria (копиотрофы), соответственно в 10,5 и 2,3 раза. При этом, в гифосфере *Lycoperdon perlatum* было выявлено уменьшение содержания филума *Verrucomicrobia* и класса *Alphaproteobacteria* в 11 и 2 раза соответственно, и увеличение содержания классов *Beta-* и *Gamma*proteobacteria в 1,5-2 раза.

В гифосфере *Gymnopus confluens* были обнаружены представители следующих филогенетических групп бактерий: *Firmicutes*, *Alpha-*, *Beta-* и *Gamma*proteobacteria, при этом их содержание было примерно равно.

Таким образом, бактериальные сообщества гифосферы всех изученных базидиомицетов существенно различаются между собой и отличаются от бактериальных сообществ контрольной почвы.

2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ МИКОРИЗОСФЕРЫ ИССЛЕДОВАННЫХ ВИДОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

2.1. Численность и таксономический состав сапротрофного бактериального комплекса микоризосферы

Микоризосфера является специфической почвенной микрозоной, формирующейся вокруг микоризированных корней растений и оказывающей влияние на окружающую почвенную микробиоту. Изучение микоризосферы как отличной от гифосферы почвенной микрозоны представляет особый интерес для выявления биоценологических связей, складывающихся между бактериями, эктомикоризным базидиомицетным мицелием и корнями растений.

Были изучены образцы микоризосферы, гифосферы и контрольной почвы 10 видов агарикоидных базидиомицетов-эктомикоризообразователей, относящихся к 7 семействам: *Amanitaceae* (*Amanita citrina*), *Cortinariaceae* (*Cortinarius betuletorum*, *C. flexipes*), *Hymenogastraceae* (*Hebeloma crustuliniforme*), *Hydnangiaceae* (*Laccaria laccata*), *Russulaceae* (*Lactarius aurantiacus*, *L. camphoratus*, *L. flexuosus*), *Marasmiaceae* (*Rhodocollybia butyracea*), *Tricholomataceae* (*Tricholoma fulvum*).

Результаты определения численности сапротрофных бактерий (метод посева на ГПД среде) представлены на рисунке 22 и в таблице 4 приложения.

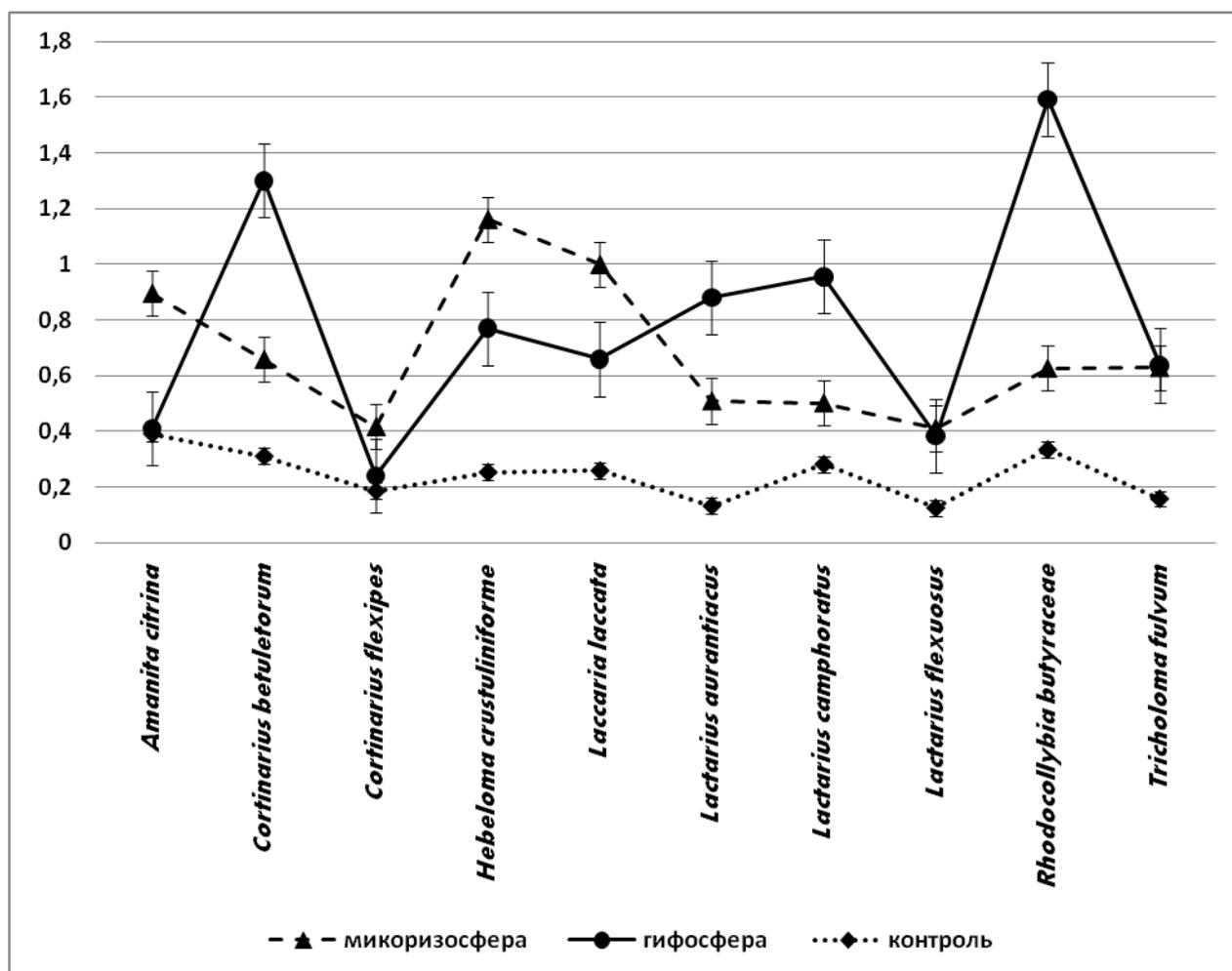


Рисунок 22. Численность сапротрофных бактерий в микоризосфере, гифосфере базидиомицетов и контрольной почве, млн. КОЕ/г.

Как видно из полученных данных, показатели численности сапротрофных бактерий в микоризосфере изменялась от 0,4 до 1,2 млн. КОЕ/г и были выше, чем в контроле у всех видов базидиомицетов в 1,8-4,6 раз. При этом численность сапротрофных бактерий в микоризосфере у 5 видов (*Amanita citrina*, *Cortinarius flexipes*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius flexuosus*), была выше, чем в гифосфере. У 4-х видов базидиомицетов (*Cortinarius betuletorum*, *Lactarius aurantiacus*, *Lactarius camphorates*, *Rhodocollybia butyraceae*) численность бактерий в микоризосфере была ниже, чем в гифосфере в 1,7-2,6 раз, а в микоризосфере и гифосфере *Tricholoma fulvum* численность сапротрофных бактерий была практически одинаковой.

Таким образом, численность сапротрофных бактерий в микоризосфере и гифосфере базидиомицетов-эктомикоризообразователей была выше, чем в

контрольной почве. При этом, численность сапротрофных бактерий в микоризосфере у половины изученных видов базидиомицетов была выше, чем в гифосфере, а у 4 видов (из 10) – ниже, чем в гифосфере. Следует отметить, что соотношение численности сапротрофных бактерий в микоризосфере и гифосфере у представителей разных видов базидиомицетов было различно.

Для того, чтобы охарактеризовать специфику бактериальных комплексов микоризосферы базидиомицетов-эктомикоризообразователей была изучена структура сапротрофных бактериальных комплексов микоризосферы, гифосферы и контрольной почвы.

При анализе структуры сапротрофного бактериального комплекса микоризосферы, гифосферы и контрольной почвы на ГПД среде были выделены и идентифицированы 204 штамма бактерий, отнесенные на основании изучения фенотипических признаков к 10 родам бактерий: *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Serratia*, *Mucococcus* и *Polyangium*.

Как видно из полученных данных (таблица 5 приложения), в микоризосфере разных видов исследованных базидиомицетов-симбиотрофов соотношение грамположительных и грамотрицательных бактерий было различным.

Так, в микоризосфере у базидиомицетов *Lactarius aurantiacus* и *Lactarius camphoratus* наблюдалось преобладание грамположительных бактерий, в микоризосфере *Hebeloma crustuliniforme* доли грамположительных и грамотрицательных бактерий были примерно равны, а в микоризосфере остальных базидиомицетов было выявлено преобладание грамотрицательных бактерий.

В гифосфере и контрольной почве всех исследованных видов базидиомицетов выявлено доминирование грамположительных бактерий. При этом, в микоризосфере всех 10 изученных видов базидиомицетов наблюдалось увеличение доли грамотрицательных бактерий по сравнению с гифосферой и контрольной почвой.

Таким образом, в микоризосфере большинства видов базидиомицетов-эктомикоризообразователей (7 из 10) выявлено преобладание грамотрицательных бактерий, тогда как в гифосфере и контрольной почве у всех 10 видов базидиомицетов-эктомикоризообразователей преобладали грамположительные бактерии.

Анализ структуры сапротрофных бактериальных комплексов выявил отличие бактериальных комплексов микоризосферы от гифосферы и контрольной почвы, которые проявляли значительное сходство друг с другом (рисунок 23).

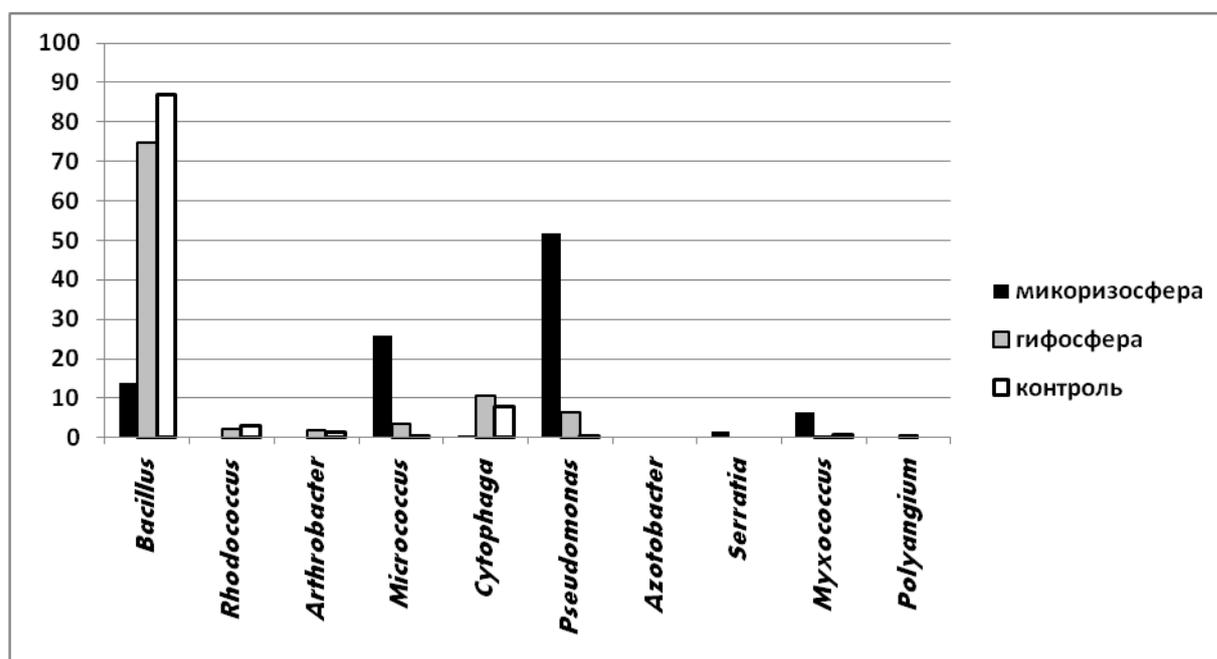


Рисунок 23. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в микоризосфере, гифосфере и контрольной почве (усредненные данные для 10 видов), в %.

Как видно из рисунка, в микоризосфере (усредненные данные для 10 видов) доминантами являются псевдомонады, субдоминанты представлены бактериями рода *Micrococcus*, группу среднего обилия составляют бациллы, а группу минорных компонентов входили роды *Cytophaga*, *Azotobacter*, *Serratia*, *Mucococcus*.

В гифосфере доминировали бациллы, группа субдоминантов отсутствовала, группа среднего обилия в гифосфере была представлена бактериями рода

Cytophaga, а в группу минорных компонентов входило 6 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Mухосoccus*, *Polyangium*).

В контрольной почве доминировали бациллы, группы субдоминантов и среднего обилия отсутствовали, а в группу минорных компонентов входило 6 родов бактерий (*Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Mухосoccus*).

Таким образом, для всех исследуемых базидиомицетов-симбиотрофов были выявлены существенные различия между структурой сапротрофного бактериального комплекса микоризосферы, гифосферы и контроля, выраженные в доминировании в микоризосфере преимущественно представителей рода *Pseudomonas*, а в гифосфере и контрольной почве доминантами были бациллы, что свидетельствует об определенном сходстве бактериальных комплексов этих локусов. Отличие сапротрофных бактериальных комплексов микоризосферы от гифосферы и контрольной почвы подтверждается при анализе количественного модифицированного коэффициента Серенсена (Брея-Кертиса) (таблица 6 приложения).

2.2. Изучение сходства сапротрофных бактериальных комплексов микоризосферы и гифосферы базидиомицетов-симбиотрофов методом кластерного анализа

На основании данных по относительному обилию отдельных родов сапротрофных бактерий в микоризосфере, гифосфере и контроле был проведен кластерный анализ сходства бактериальных комплексов исследуемых локусов (рисунок 24).

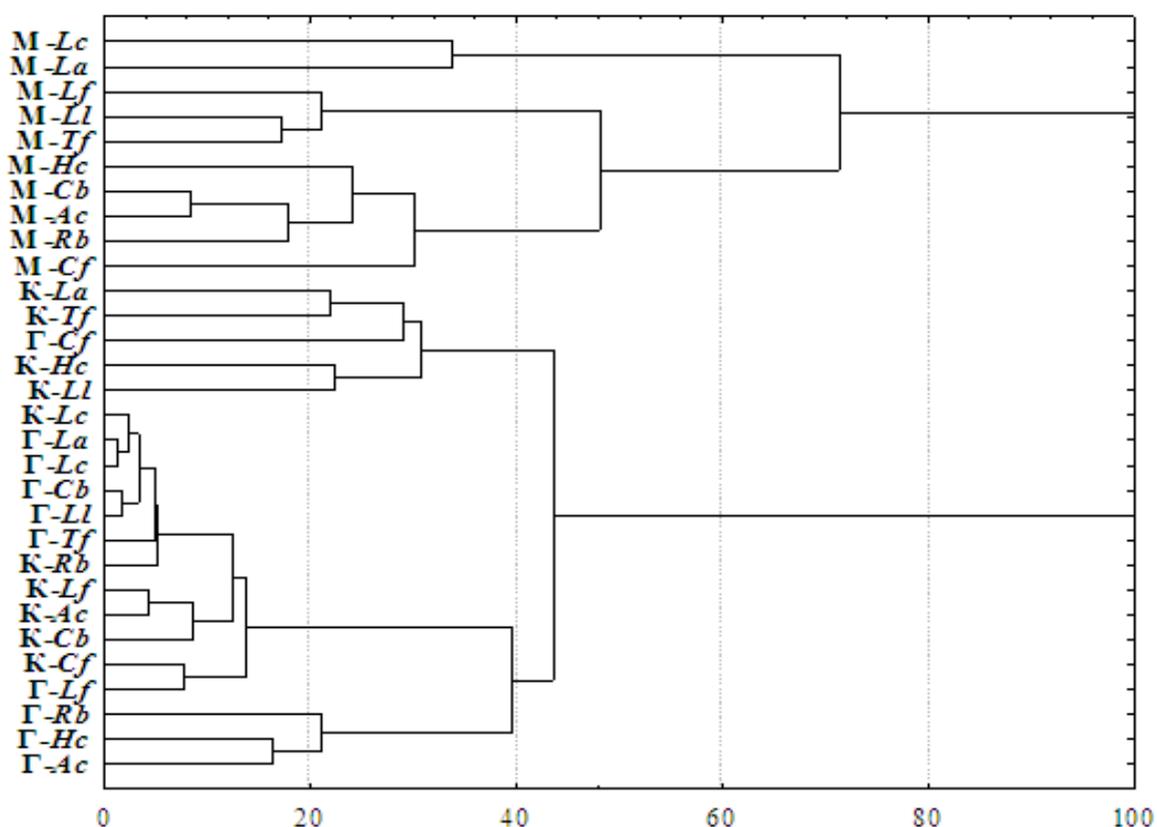


Рисунок 24. Дендрограмма сходства бактериальных комплексов микоризосферы (М), гифосферы (Г) и контрольной почвы (К) изученных базидиомицетов. Латинскими буквами обозначены виды базидиомицетов (см. стр. 43-46).

Как видно из рисунка 24, бактериальный комплекс микоризосферы исследованных видов базидиомицетов проявлял значительное сходство и составлял отдельный кластер, отличающийся от комплексов гифосферы и контрольной почвы. Бактериальные комплексы гифосферы и контрольной почвы исследованных базидиомицетов не составляли отдельных кластеров и проявляли большее сходство друг с другом, чем каждый из них с микоризосферой.

Таким образом, полученные результаты служат свидетельством существенного действия микоризированных корней растений на сапротрофные почвенные бактерии. Влияние микоризосферы на бактерии проявлялось как в изменении численности сапротрофных бактерий, так и изменении структуры бактериальных комплексов на уровне доминантов и субдоминантов. Подобное явление позволяет предположить, что в микоризосфере наблюдается особый тип взаимоотношений между бактериями, мицелием грибов и корнями древесных

растений сходный с ризосферным эффектом, многократно наблюдавшимся многими исследователями в ризосфере травянистых растений (Katznelson et al., 1962; Bowen, Theodorou, 1979; Curl, Truelove, 1986; Timonen et al., 1998; Cairney, Meharg, 2002).

3. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ И ГИФОСФЕРЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

3.1. Общая численность бактерий в плодовых телах базидиомицетов

Своеобразным местообитанием для бактерий, тесно связанным с базидиомицетами в лесном биогеоценозе, являются плодовые тела. Развитие биомассы плодовых тел имеет два основных максимума – весенний и осенний, что связано с условиями увлажнения почвы и поступлением органического вещества в почву (Великанов, 1997). Можно предположить, что плодовые тела базидиомицетов в моменты их максимального развития могут оказывать существенное влияние на формирование бактериальных сообществ почвы.

Были изучены бактериальные комплексы плодовых тел видов агарикоидных эктомикоризообразующих базидиомицетов, наиболее часто встречающихся в лесных биоценозах зоны Южной Тайги (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita panterina*).

Результаты определения показателей общей численности бактерий в плодовых телах базидиомицетов с использованием красителя акридина оранжевого представлены на рисунке 25а и в таблице 7 приложения.

Как видно полученных данных, показатели общей численности бактерий в плодовых телах 5 видов агарикоидных базидиомицетов-эктомикоризообразователей изменялись от 4,2 до 20 млрд. клеток/г, и только у *Amanita muscaria* составляли 196,7 млрд. клеток/г, что связано с тем, что плодовое тело находилось на поздней стадии разложения.

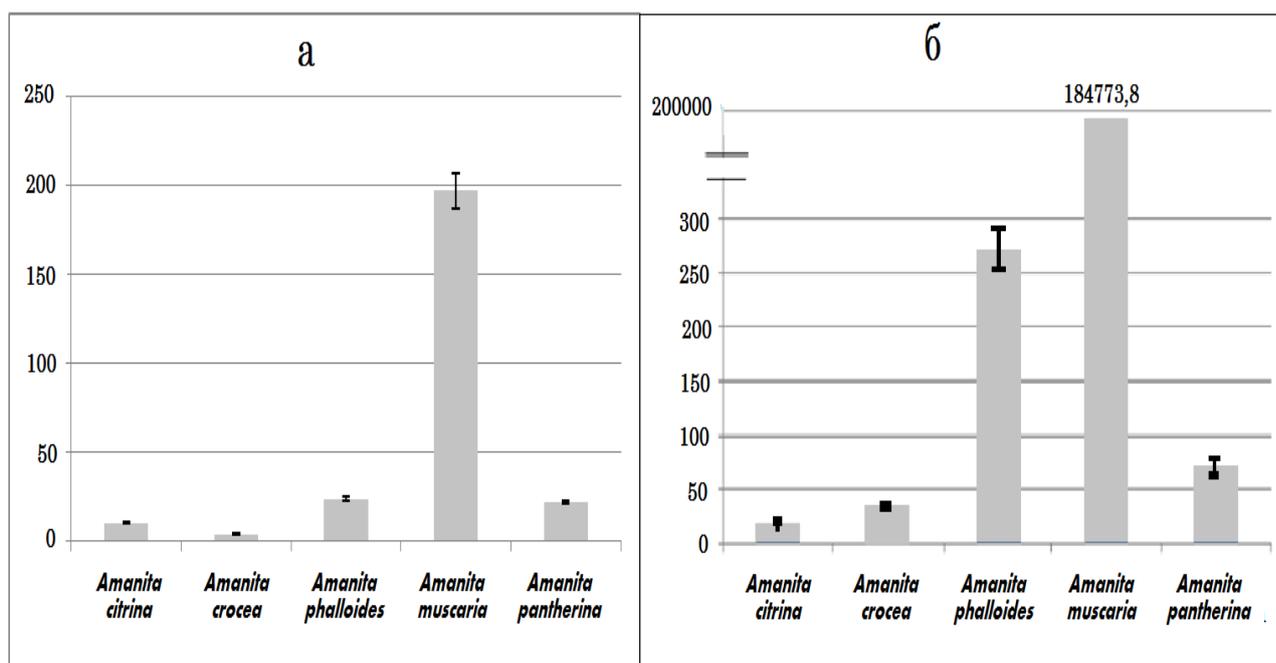


Рисунок 25. (а) Общая численность (млрд. клеток/г) и (б) численность сапротрофных бактерий в плодовых телах базидиомицетов (млн. КОЕ/г).

3.2. Численность сапротрофных бактерий в плодовых телах базидиомицетов

Результаты определения численности сапротрофных бактерий (метод посева на ГПД среду) в образцах плодовых тел базидиомицетов представлены на рисунке 25б и в таблице 8 приложения.

Как видно из полученных данных численность сапротрофных бактерий в плодовых телах агариикоидных базидиомицетов-эктомикоризообразователей (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita phalloides*, *Amanita pantherina*) варьировала в пределах 19,3 до 271 млн. КОЕ/г. При этом в образце плодового тела *Amanita muscaria* численность сапротрофных бактерий достигала величины 185 млрд. КОЕ/г, что связано с активно идущим процессом разложения плодового тела с участием личинок мицетофилид. Обращает на себя внимание тот факт, что показатели общей численности бактерий и численности сапротрофных бактерий в плодовом теле *Amanita muscaria* практически одинаковы, что свидетельствует о преимущественном развитии сапротрофных бактерий на поздних стадиях разложения плодового тела базидиомицета, характеризующихся значительными количествами доступных для бактерий субстратов.

Таким образом, общая численность бактерий и численность сапротрофных бактерий в плодовых телах базидиомицетов довольно велики и сильно зависят от возраста плодового тела. Так, показатели общей численности бактерий и численности сапротрофных бактерий в плодовых телах базидиомицетов, в которых явно не выражены процессы разложения плодового тела, достигают десятков млрд. клеток/г и десятков млн. КОЕ/г соответственно. А в образцах плодовых тел базидиомицетов с активно идущими процессами разложения показатели общей численности бактерий и численности сапротрофных бактерий имеют практически одинаковые значения и достигают величин порядка $2 \cdot 10^{11}$ клеток/г.

3.3. Структура сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов

Для того, чтобы охарактеризовать различия в сапротрофном бактериальном комплексе плодовых тел исследуемых базидиомицетов, была определена доля отдельных таксонов бактерий в исследуемых образцах (таблица 9 приложения). Всего на ГПД среде было выделено и идентифицировано 74 штамма бактерий, принадлежащих к 18 родам: *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Cytophaga*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Plesiomonas*, *Mycococcus*. Как видно из полученных данных, в плодовых телах исследуемых видов базидиомицетов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita pantherina*) доминировали грамотрицательные бактерии, содержание которых доходило иногда до 100 % всех выросших бактерий (98,7-100%). В гифосфере трех видов базидиомицетов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita phalloides*) доля грамотрицательных бактерий была значительно выше, чем доля грамположительных и составляла 73,5 – 91,7%. Таким образом, в плодовых телах базидиомицетов разных морфологических и экологических групп доминировали грамотрицательные бактерии.

Изучение структуры сапротрофных бактериальных комплексов плодовых тел базидиомицетов *Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita panterina* показало (рисунок 26), что в плодовых телах базидиомицетов доминировали псевдомонады, субдоминанты отсутствовали, группа среднего обилия была представлена бактериями семейства Enterobacteriaceae – *Enterobacter*, *Erwinia*, *Plesiomonas*, а группу минорных компонент составляли 7 родов бактерий (*Streptomyces*, *Cytophaga*, *Chromobacterium*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Mycococcus*).

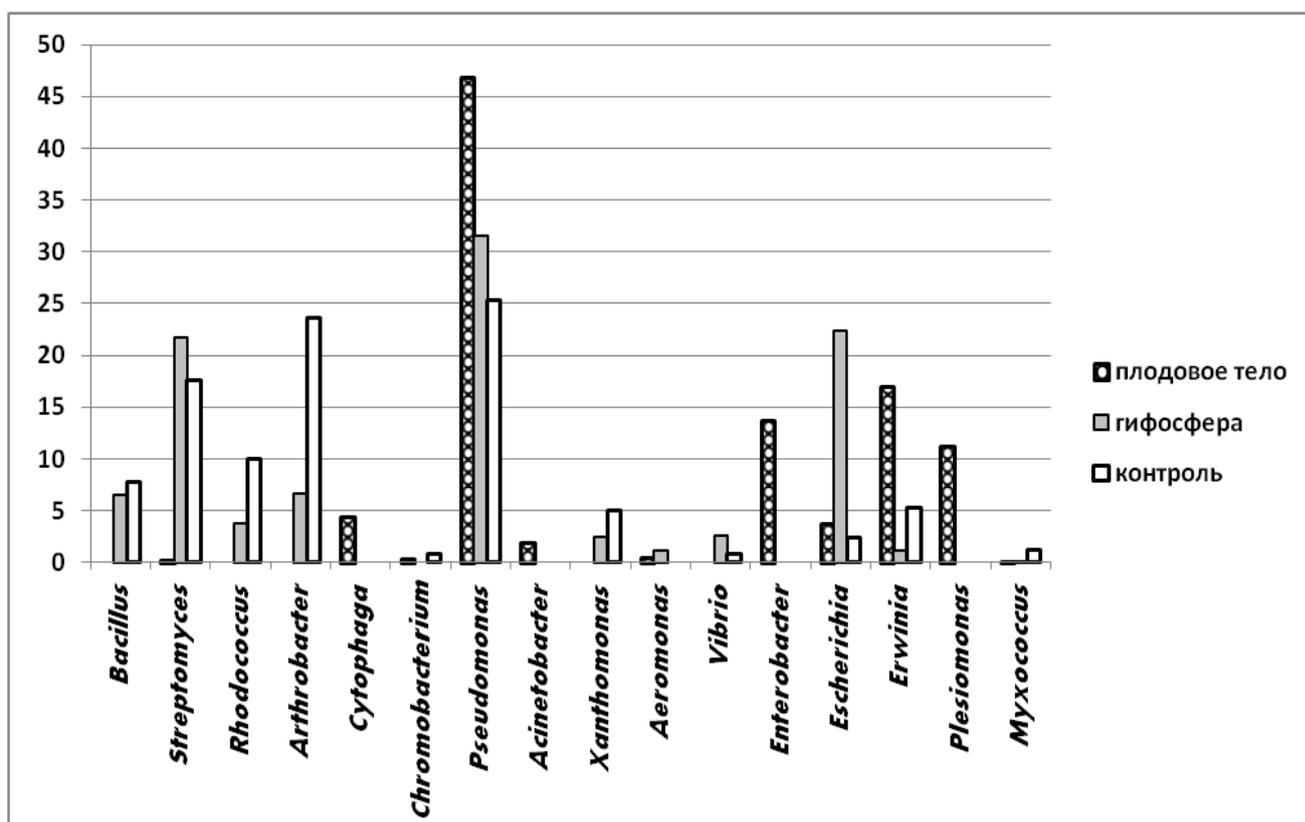


Рисунок 26. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в плодовых телах, гифосфере базидиомицетов и контрольной почве (усредненные данные для 5 видов), в %.

В гифосфере доминантами являются бактерии рода *Pseudomonas*, субдоминанты были представлены родами *Streptomyces* и *Escherichia*, группа среднего обилия отсутствовала, а группу минорных компонент составляли 8 родов бактерий (*Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Xanthomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Erwinia*, *Mycococcus*).

В контрольной почве доминантов нет, субдоминанты представлены родами *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, в группу средненго обилия входили роды *Streptomyces* и *Rhodococcus*, а группа минорных компонент состояла из 7 родов бактерий (*Bacillus*, *Chromobacterium*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Mухосoccus*).

Таким образом, структура сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы проявляют большее сходство между собой, чем с бактериальными комплексами плодовых тел базидиомицетов. Данный вывод подтверждается при анализе количественного модифицированного коэффициента сходства Серенсена (Брея – Кертиса) (таблица 10 приложения).

Полученные результаты определения родового состава бактериальных комплексов плодовых тел, согласуются с литературными данными. Так, бактериологический анализ плодовых тел *Tricholoma matsutake*, проведенный японскими исследователями, позволил обнаружить представителей рода *Acinetobacter*, а плодовых тел *Coprinus disseminates* – *Bacillus* (Tsukamoto et al., 2002). Следует отметить, что доминантами на плодовых телах базидиомицетов часто являются грамотрицательные бактерии. Общая численность бактерий в плодовых телах может достигать величин 10^7 КОЕ/г (Dahm et al., 2005). Предполагается активное участие бактерий во многих процессах в плодовых телах базидиомицетов (Dahm et al., 2005). Так, хорошо известно, что многие бактерии, обладающие протео- и хитинолитической активностью, принимают активное участие в процессе разложения плодовых тел мицелиальных грибов (Dahm et al., 2005). Среди таких бактерий обнаружены представители родов *Bacillus*, *Collimonas*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Sphingobacterium*, *Mycetocola*, *Pedobacter*, *Moraxella*, *Staphylococcus* (De Boer et al., 2005; Leveau, Preston, 2007; Sharma et al., 2008).

Полученные результаты о доминировании в плодовых телах базидиомицетов грамотрицательных бактерий до определенной степени сходны с полученными ранее результатами по определению структуры сапротрофного

бактериального комплекса филопланы и подстилки лесного биогеоценоза, где доминантами также были бактерии родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Mucosoccus* (Добровольская, 2002; Лысак, 2010).

Сравнительное изучение сапротрофных бактериальных комплексов плодовых тел, гифосферы 5 видов базидиомицетов (*Amanita citrina*, *Amanita crocea*, *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, *Amanita panterina*) и контрольной почвы с помощью метода кластерного анализа показало (рисунок 27) выявили сходство бактериальных комплексов плодовых тел между собой и их отличие от бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы.

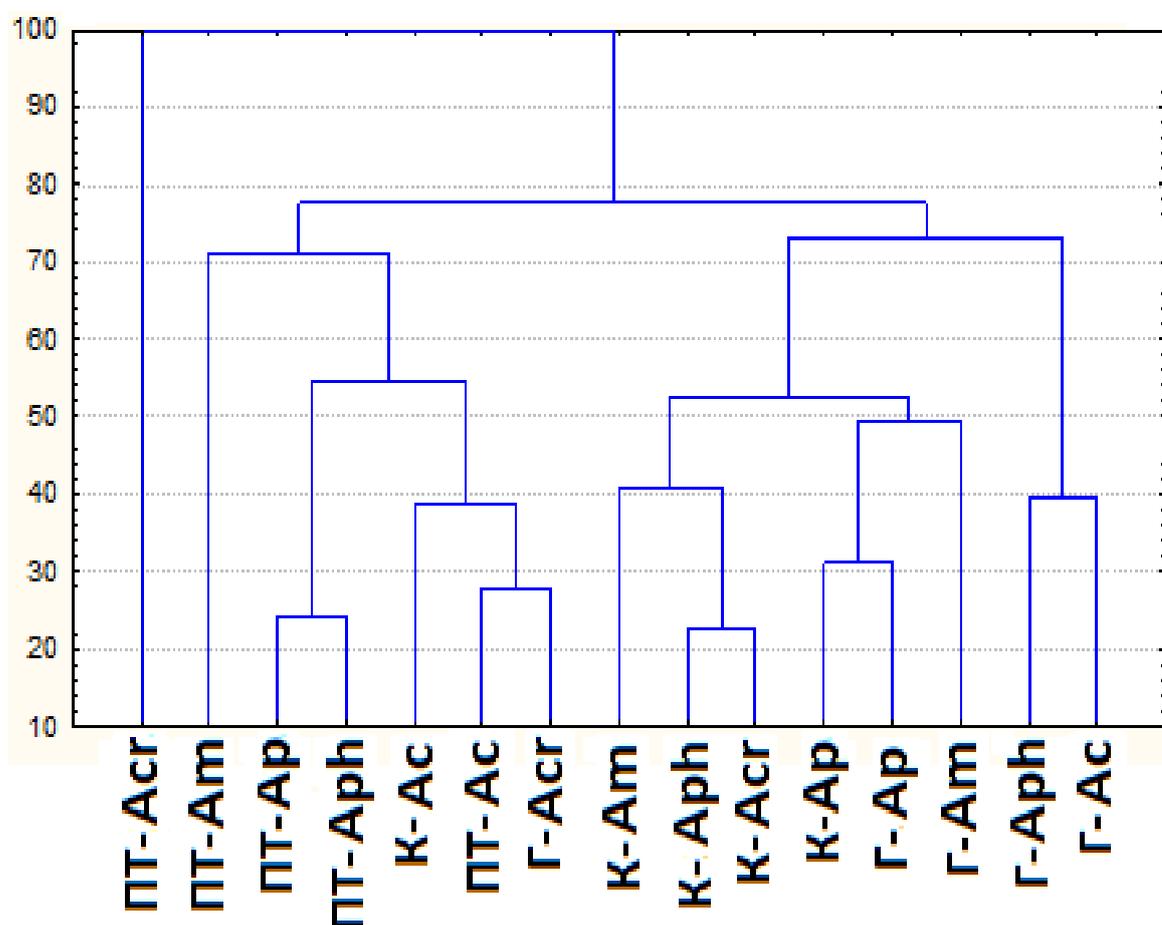


Рисунок 27. Дендрограмма сходства сапротрофных бактериальных комплексов плодовых тел (ПТ), гифосферы (Г) и контрольной почвы (К) изученных базидиомицетов. Латинскими буквами обозначены виды базидиомицетов (см. стр. 43-46).

4. ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИОМИЦЕТОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ И РАЗЛОЖЕНИЯ

Ранее было показано, что общая численность бактерий и численность сапротрофных бактерий, населявших разлагающиеся плодовые тела *Amanita muscaria*, была довольно велика и составляла 196,7 млрд.клеток/г и 184773,8 млн. КОЕ/г (стр. 92). Для того, чтобы более детально проследить изменения численности и возможные изменения структуры сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов в процессе развития и разложения плодового тела, были отобраны и проанализированы образцы плодовых тел разного возраста двух видов агариикоидных базидиомицетов с разным механизмом разложения – автолиз на примере *Coprinus comatus* и обильное заселение личинками двукрылых насекомых – мицетофилид («грибные комарики» *Mycetophila sp.*) на примере *Armillaria mellea*.

Образцы плодовых тел *Armillaria mellea* анализировали на 3, 8, 12 и 14 сутки от начала формирования плодового тела, появление личинок мицетофилид было выявлено уже на 12 день жизни плодового тела, а на 14 день плодовое тело представляло собой темно-коричневую массу с обилием личинок мицетофилид. Возраст плодовых тел *Coprinus comatus*, отобранных для анализа составлял 1, 3, 8 и 9 суток, плодовое тело на 9 сутки от начала его формирования представляло собой желеобразную темную массу с практически ненарушенной ножкой плодового тела (см. страницу 41).

Была определена общая численность бактерий в образцах плодовых тел с помощью красителя акридина оранжевого. Результаты определения общей численности бактерий на разных стадиях развития и разложения плодовых тел представлены на рисунке 28 и таблице 11 приложения.

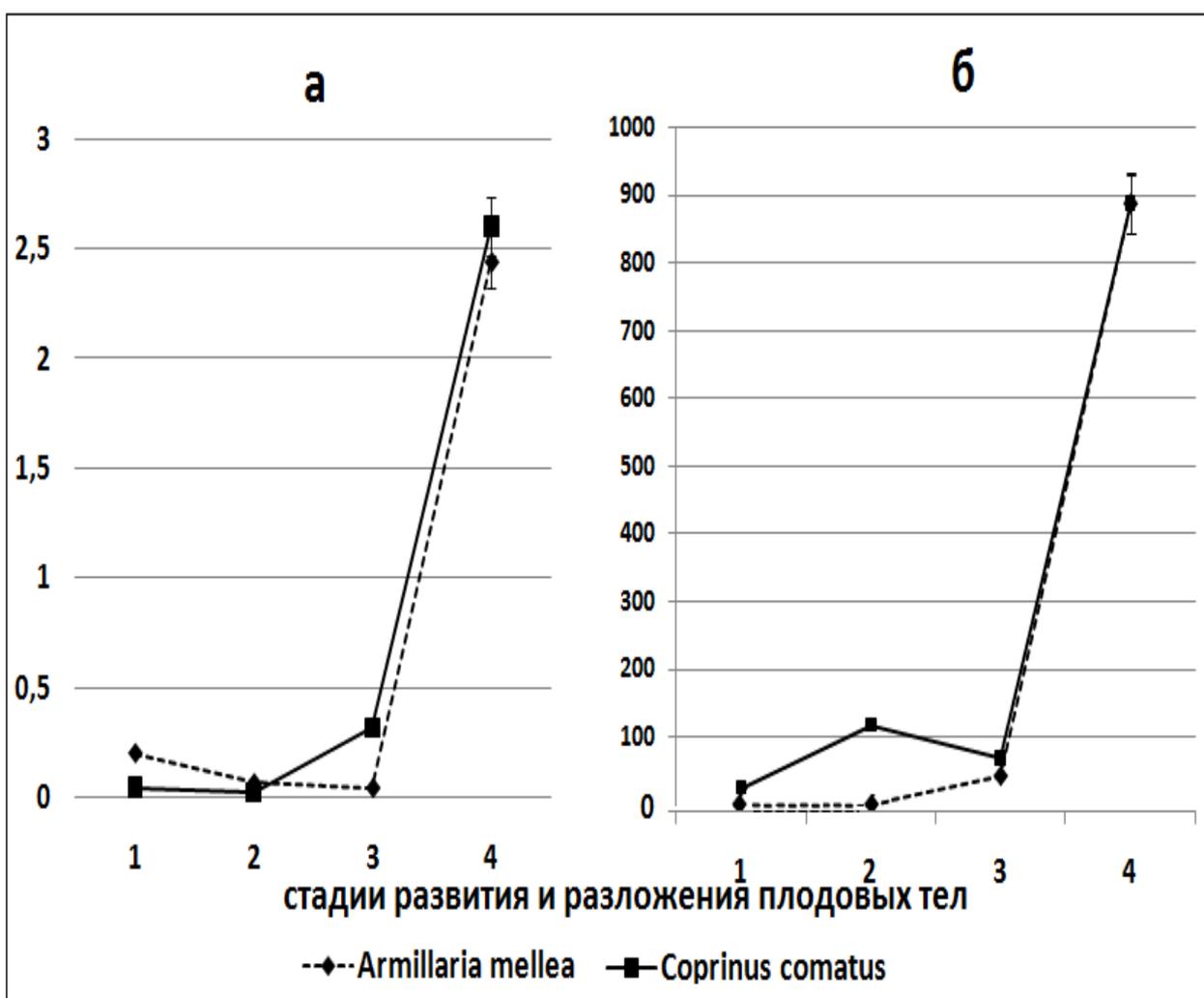


Рисунок 28. (а) Общая численность бактерий (млрд. клеток/г) и (б) численность сапротрофных бактерий (млн. КОЕ/г) в образцах плодовых тел базидиомицетов на разных стадиях развития и разложения.

Как видно из полученных данных, показатели общей численности бактерий в плодовых телах *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus* изменялись во времени: были ниже на начальных стадиях развития (1-3) и выше – на стадии разложения (4), независимо от механизма разложения.

При этом минимальные показатели общей численности бактерий были выявлены на самых начальных стадиях развития плодовых тел (у *Coprinus comatus* 0,047 млрд. клеток/г, у *Armillaria mellea* 0,203 млрд. клеток/г), а максимальные – на заключительной стадии разложения (4) плодовых тел (у *Coprinus comatus* 2,64 млрд. клеток/г, у *Armillaria mellea* 2,44 млрд. клеток/г).

Обращает на себя внимание значительное увеличение показателей общей численности бактерий на заключительной стадии разложения плодового тела по сравнению с начальной – более, чем на порядок (в 10 и 55 раз соответственно для *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus*). Это свидетельствует об активном участии бактерий в процессах разложения плодовых тел у исследованных базидиомицетов. Следует отметить, что на заключительной стадии разложения плодовых тел обоих видов базидиомицетов показатели общей численности бактерий практически одинаковы – около 2,44 млрд. клеток/г (*Armillaria mellea*) и 2,64 млрд. клеток/г (*Coprinus comatus*), что может быть связано с поступлением питательных веществ из разлагающихся тканей плодовых тел.

Изучение сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел позволило обнаружить его качественные и количественные изменения в процессе развития и разложения плодовых тел. Результаты определения численности сапротрофных бактерий представлены на рисунке 28 и таблице 12 приложения.

Как видно из полученных данных, показатели численности сапротрофных бактерий в тканях плодовых тел обоих видов базидиомицетов на разных стадиях развития были различны и изменялись от 0,9 до 886,9 млн. КОЕ/1 г и от 24,7 до 888,2 млн. КОЕ/г соответственно у *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus*. При этом, минимальные показатели численности сапротрофных бактерий, выращенных на ГПД, так же, как и для показателей общей численности, выявлены на ранних стадиях развития плодового тела, а максимальные – на стадии разложения. Следует отметить, что на заключительной стадии разложения плодовых тел обоих видов базидиомицетов численность сапротрофных бактерий достигла практически одинаковых значений – около 900 млн. КОЕ/г, что на 1-2 порядка выше их численности на ранних стадиях развития плодового тела.

Таким образом, общая численность и численность сапротрофных бактерий были значительно выше на заключительной стадии разложения плодовых тел независимо от механизма. При этом показатели общей численности и численности сапротрофных бактерий достигали близких величин у обоих видов базидиомицетов.

Из исследованных образцов плодовых тел базидиомицетов на ГПД среде были выделены и идентифицированы 72 штамма бактерий, отнесенные к 12 родам: *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Plesiomonas*, *Mухосoccus* и *Polyangium* (рисунок 29 и таблица 13 приложения).

Следует отметить, что сапротрофный бактериальный комплекс плодовых тел *Armillaria mellea* характеризуется большим родовым разнообразием, чем *Coprinus comatus*, что связано с участием мицетофилид в разлагающихся плодовых телах. Так, сапротрофный бактериальный комплекс плодовых тел *Armillaria mellea* характеризовался присутствием 12 родов бактерий: *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Plesiomonas*, *Mухосoccus*, *Polyangium*, тогда как в образцах плодовых тел *Coprinus comatus* было обнаружено только 3 рода бактерий: *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*. Значительное родовое разнообразие бактериального комплекса у *Armillaria mellea* может быть связано с жизнедеятельностью личинок мицетофилид во время разложения плодовых тел базидиомицетов.

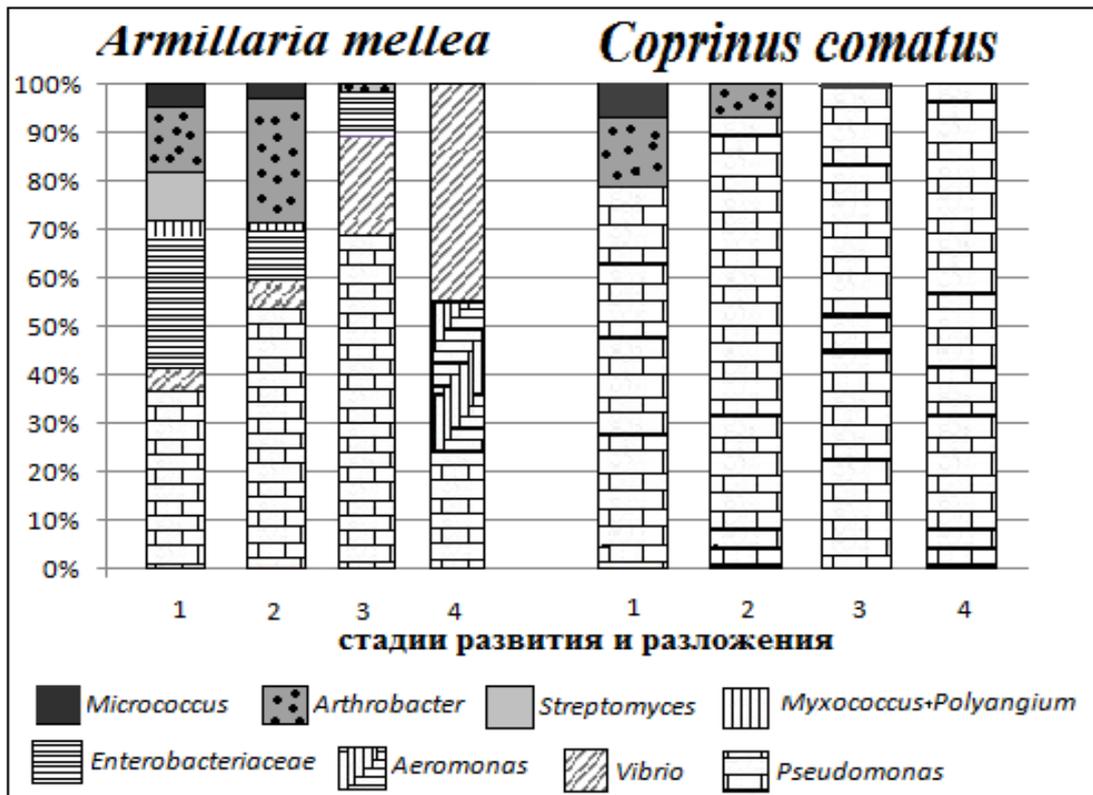


Рисунок 29. Относительное обилие родов сапротрофных бактерий в плодовых телах *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus* на разных стадиях развития и разложения.

Как видно из полученных данных (табл. 29), на разных стадиях развития плодовых тел *Armillaria mellea* наблюдались различия в структуре бактериального комплекса, что выражалось в смене потенциальных доминантов, а также ином распределении родов бактерий среди субдоминантов, группы среднего обилия и минорных компонентов. Так, начальная стадия развития плодового тела (1) характеризовалась доминированием бактерий рода *Pseudomonas*, группа субдоминантов отсутствовала, в группе среднего обилия обнаруживались бактерии родов *Plesiomonas*, *Acinetobacter*, а также типичные почвенные бактерии родов *Streptomyces* и *Arthrobacter*, группу минорных компонентов составляли бактерии родов *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Polyangium*, *Myxococcus*. На следующей стадии развития плодового тела (2) субдоминанты были представлены родом *Arthrobacter*, группа среднего обилия отсутствовала, а группу минорных компонентов составляли роды *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Erwinia*, *Polyangium*, *Myxococcus*. На стадии развития плодового тела, которая

характеризовалась наличием немногочисленных личинок мицетофилид (3), доминанты представлены родом *Pseudomonas*, субдоминанты родом *Aeromonas*, группу минорных компонентов составляли бактерии родов *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Polyangium*, *Mycococcus*. На заключительной стадии разложения плодового тела *Armillaria mellea* доминировали бактерии родов *Aeromonas* и *Vibrio*, а псевдомонады были субдоминантами.

Структура сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел *Coprinus comatus*, разложение которого происходит без участия личинок насекомых, а обусловлено процессами автолиза существенно отличалась от *Armillaria mellea*. Так, на всех стадиях развития плодовых тел доминантами были псевдомонады. На ранней стадии развития плодовых тел группа среднего обилия была представлена бактериями рода *Arthrobacter*, а группа минорных компонентов – родом *Micrococcus*, которые на поздних стадиях развития плодовых тел (2-3) переходили в группу минорных компонентов.

В целом, в образцах обоих видов базидиомицетов на всех стадиях развития плодового тела наблюдается доминирование грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Mycococcus*, *Polyangium*, *Acinetobacter*, *Plesiomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*), доля которых возрастала по мере увеличения возраста плодового тела (таблица 13 приложения). Так, на начальных стадиях развития плодовых тел доля грамотрицательных бактерий составляла от 70% до 78% (соответственно для *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus*), и достигала 100% на поздней стадии развития плодового тела у обоих видов базидиомицетов. При этом грамотрицательные бактерии у *Coprinus comatus* были представлены только псевдомонадами. В тканях *Armillaria mellea* псевдомонады были доминантами среди грамотрицательных бактерий на ранних стадиях развития плодового тела (1-3), прочие грамотрицательные были представлены семейством *Enterobacteriaceae* (роды *Acinetobacter*, *Plesiomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*) и родами *Vibrio*, *Aeromonas*, *Mycococcus*, *Polyangium*. Стадия разложения плодового тела (4) *Armillaria mellea* характеризовалась доминированием бактерий родов *Aeromonas* и *Vibrio*, при этом бактерии рода *Pseudomonas* переходили в группу

субдоминантов. Следует отметить, что только на начальных стадиях развития плодовых тел базидиомицетов в бактериальном комплексе обнаруживались типичные почвенные бактерии родов *Streptomyces* и *Arthrobacter*, которые далее не обнаруживались.

Резкое снижение доли грамположительных бактерий в процессе развития плодового тела *Armillaria mellea* стадии может быть связано с выделением тканями гриба меллеолидов – сесквитерпенов, обладающих антимикробной активностью против грамположительных бактерий (Gao et al., 2001).

В водных экстрактах автолизированных плодовых тел *Coprinus comatus* обнаружены дисахарид трегалоза и полисахариды глюканы и фукогалактаны (Li et al., 2013), которые могут использовать бактерии рода *Pseudomonas* (Mennink-Kersten et al., 2008). Именно это, видимо и приводит к абсолютному доминированию псевдомонад в разлагающихся тканях плодового тела.

В результате разложения плодовых тел базидиомицетов на поверхности почвы и под ними могут сформироваться локусы высокой концентрации бактерий определенной таксономической принадлежности, главным образом, грамотрицательных бактерий родов *Pseudomonas* (конечная стадия разложения *Coprinus comatus*) и *Aeromonas*, *Vibrio* и *Pseudomonas* (конечная стадия разложения *Armillaria mellea*). На начальных стадиях развития плодовых тел в почву с их фрагментами могут попасть представители широкого спектра грамотрицательных бактерий, наряду с родами *Aeromonas*, *Vibrio* и *Pseudomonas* также представители родов *Acinetobacter*, *Plesiomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Mycococcus*, *Polyangium*. Именно так может реализоваться важная средообразующая роль базидиомицетов по отношению к бактериальным сообществам почвы.

Близкие закономерности были выявлены ранее при изучении влияния плодовых тел базидиомицетов на почвенные дрожжевые сообщества (Полякова, Чернов, 1999). Было показано, что численность дрожжей, обитающих в разлагающихся плодовых телах базидиомицетов, была существенно выше, чем в свежих плодовых телах, и сохранялась достаточно высокой в почвенной

подстилке, под остатками разложившегося гриба. При этом на расстоянии нескольких сантиметров от плодового тела гриба, численность дрожжей составляла обычные для лесных подстилок значения, а доля аскомицетовых видов, которые обильно развиваются именно в плодовых телах базидиомицетов, резко падала. Именно так, плодовые тела базидиомицетов вносили заметный вклад в структуру микробного сообщества лесных экосистем, перераспределяя численность и состав дрожжевого комплекса подстилки за счет локального внесения аскомицетовых дрожжей (Полякова, Чернов, 1999).

Ранее было показано, что в почве мицелий базидиомицетов формирует специфический почвенный локус (гифосферу), отличающийся от окружающей контрольной почвы по численности бактерий и структуре сапротрофного бактериального комплекса (Великанов, 1997; Фомичева и др., 2006; De Voer et al., 2005). Прослеживаются определенные биоценотические связи между бактериальными сообществами плодовых тел и гифосферы базидиомицетов. Можно предположить, что разлагающиеся плодовые тела базидиомицетов, обогащенные некоторыми родами бактерий (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Mycococcus*, *Aeromonas*, *Vibrio*), при попадании их на поверхность подстилки и далее в почву внесут свой значительный вклад в формировании структуры бактериальных комплексов не только верхнего горизонта почвы, но и гифосферы в пределах колоний базидиомицетов.

При этом под разлагающимися плодовыми телами в период их максимального развития в лесном биоценозе будет наблюдаться как увеличение общей численности бактерий, так и численности отдельных родов грамотрицательных бактерий (в особенности рода *Pseudomonas*).

Таким образом, разложение плодовых тел базидиомицетов характеризуется развитием в них значительных количеств бактерий (до нескольких млрд. клеток/г), большая часть которых представлена грамотрицательными бактериями. В зависимости от характера разложения плодовых тел доминируют разные роды бактерий (*Pseudomonas* у *Coprinus comatus*, *Aeromonas*, *Vibrio* у *Armillaria mellea*).

5. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ САПРОТРОФНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ГИФОСФЕРЫ, МИКОРИЗОСФЕРЫ И ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ИССЛЕДОВАННЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

С помощью метода главных компонент (рис. 30) был проведен сравнительный анализ структуры сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы (32 вида – см. страницу 61), микоризосферы (10 видов – см. страницу 84), плодовых тел (5 видов базидиомицетов рода *Amanita* – см. страницу 91; и плодовых тел *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus* разного возраста – стр. 97) всех изученных видов базидиомицетов.

Как видно из рисунка, сапротрофные бактериальные комплексы гифосферы базидиомицетов формируют 2 области, одна область четко отграничена от всех остальных и представлена практически полностью агарикоидными базидиомицетами-эктомикоризообразователями (10 видов), вторая область представлена афиллофороидными, гастероидными базидиомицетами и остальными видами агарикоидных базидиомицетов.

Сапротрофные бактериальные комплексы микоризосферы агарикоидных базидиомицетов-эктомикоризообразователей проявляют значительное сходство между собой и отличаются от сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы.

Сапротрофные бактериальные комплексы плодовых тел базидиомицетов проявляют сходство между собой и с микоризосферой и отличаются от сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы своих видов.

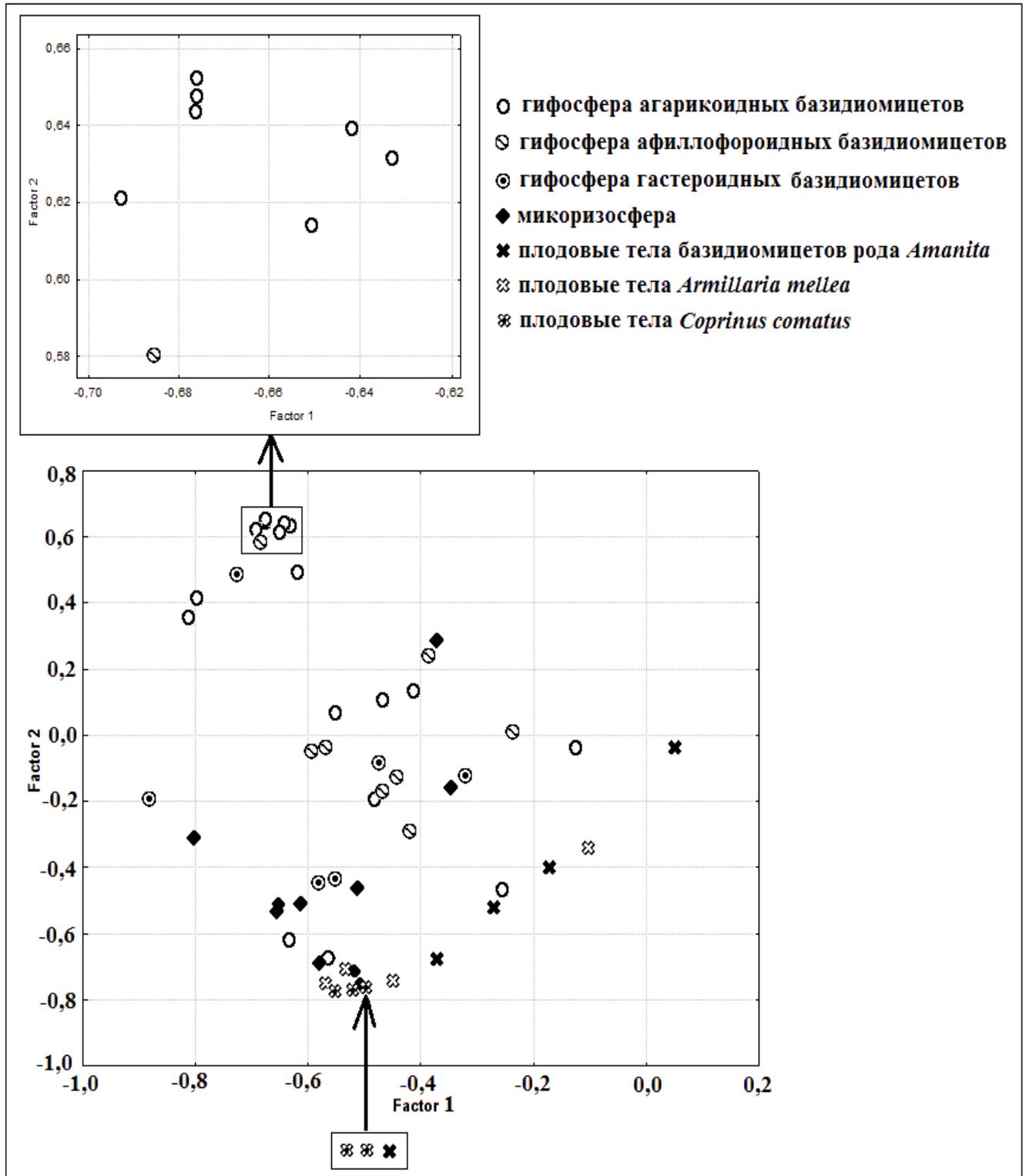


Рисунок 30. Сходство сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы, микоризосферы и плодовых тел всех исследованных базидиомицетов (метод главных компонент).

С помощью метода главных компонент также был проведен сравнительный анализ структуры сапротрофных бактериальных комплексов гифосферы

базидиомицетов разных экологических групп (32 вида – см. страницу 61), микоризосферы (10 видов – см. страницу 84), плодовых тел (5 видов базидиомицетов рода *Amanita* – см. страницу 91; и плодовых тел *Armillaria mellea* и *Coprinus comatus* разного возраста – стр. 97) всех изученных видов базидиомицетов (рисунок 31).

Как видно из рисунка 31, сапротрофные бактериальные комплексы гифосферы базидиомицетов-эктомикоризообразователей формируют 2 области распределения: одна практически полностью представлена агарикоидными видами, а другая область – остальными агарикоидными видами и практически всеми афиллофороидными и гастероидными видами базидиомицетов, проявляющая значительное сходство с базидиомицетами остальных экологических групп.

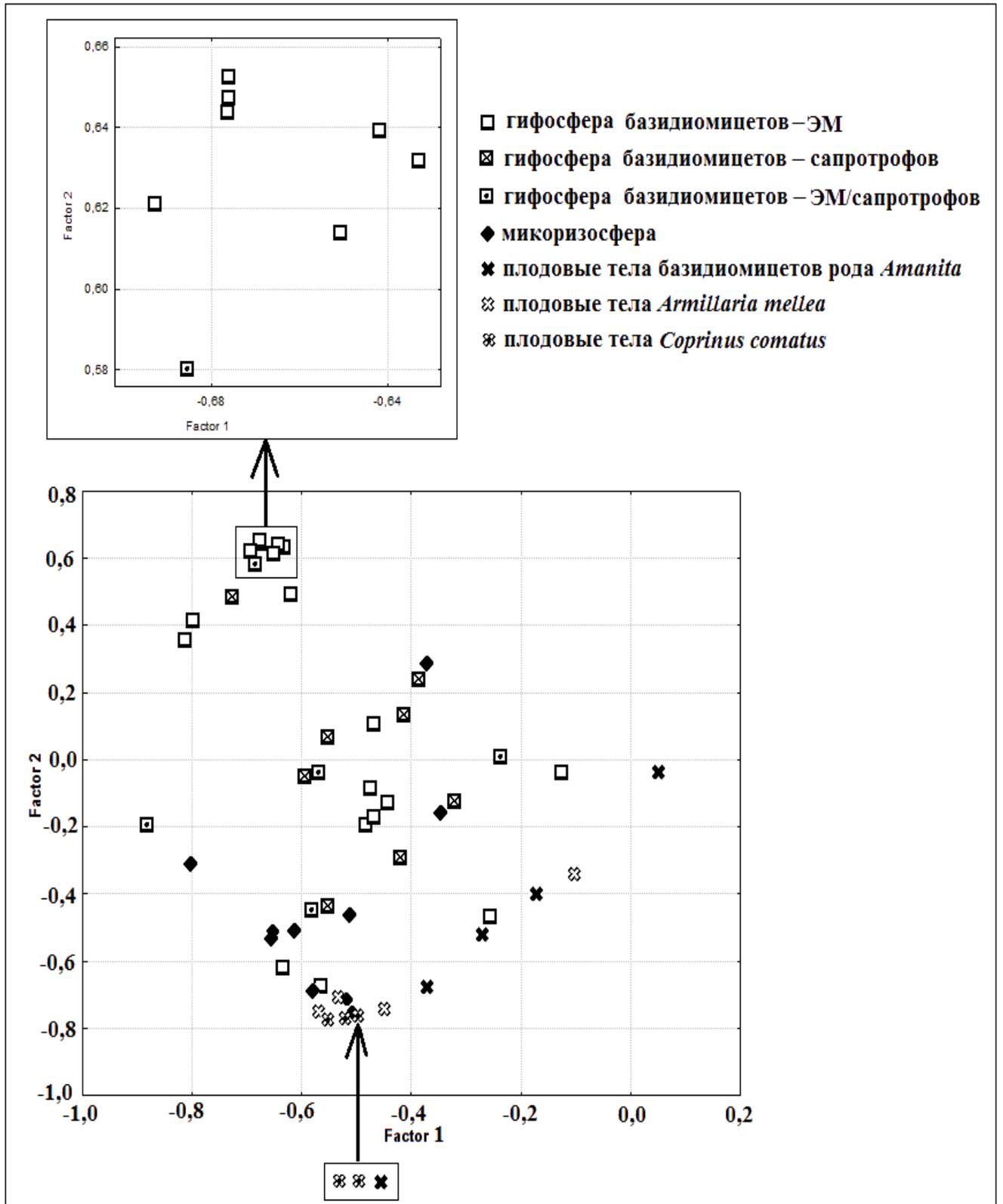


Рисунок 31. Сходство сапротрофных бактериальных комплексов ги́фосферы, микоризосферы и плодовых тел исследованных бази́диомицетов разных экологических групп (метод главных компонент).

6. ИЗУЧЕНИЕ АДГЕЗИИ БАКТЕРИЙ НА ГИФАХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Накопление псевдомонад в гифосфере и микоризосфере базидиомицетов, помимо других причин, видимо может быть связано с разной способностью к адгезии на гифах базидиомицетов представителей различных родов почвенных бактерий. Для проверки этой гипотезы были проведены модельные опыты по адгезии бактерий на поверхности гиф некоторых базидиомицетов.

В модельных опытах были использованы 3 вида базидиомицетов, которые успешно культивируются на питательных средах и относятся к двум морфологическим группам – агарикоидные (*Clitocybe nebularis*, *Coprinus comatus*) и гастероидные (*Phallus impudicus*). В качестве бактериальной компоненты были выбраны бактерии родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Xanthomonas*, которые являются типичными обитателями почвы, а также часто выделяются из исследованных образцов гифосферы базидиомицетов *Clitocybe nebularis*, *Phallus impudicus*, *Coprinus comatus*.

Для проведения эксперимента базидиомицеты выращивали на плотной питательной среде в течение 14 суток до развития обильного мицелия. Мицелий переносили в пробирку со стерильной водой, туда же вносили бактериальную биомассу, выращенную на плотной питательной среде. Полученную искусственную бинарную культуру поддерживали в пробирке и анализировали на 1, 5 и 9 сутки. Для этого из пробирки извлекали фрагменты мицелия базидиомицета и переносили его на предметное стекло и окрашивали акридином оранжевым (методика проведения эксперимента подробно изложена на стр. 50).

Изучение адгезии бактерий на гифах базидиальных грибов позволило выявить определенную специфику этого процесса у представителей различных родов бактерий. Так, на поверхности гиф всех трех исследованных видов базидиомицетов, бактерии родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* образовывали многослойные биопленки, бактерии рода *Arthrobacter* формировали скопления (конгломераты) клеток в точках роста и ветвления гиф, а бациллы практически не прикреплялись к гифам (рисунки 32-34). Следует отметить, что характер адгезии

бактерий на гифах базидиомицетов оставался однотипным у представителей одного рода бактерий и не изменялся на 1, 5 и 9 сутки эксперимента. Из литературы известно, что *Pseudomonas fluorescens* образует биопленку на поверхности гиф эктомикоризообразующего базидиального гриба *Laccaria bicolor* (Bianciotto et al., 2001; Frey-Klett et al., 2007).

Проведенные модельные опыты позволяют сделать вывод о том, что способность образовывать многослойную биопленку на поверхности гиф базидиомицетов может являться одной из причин доминирования бактерий рода *Pseudomonas* в микоризосфере.

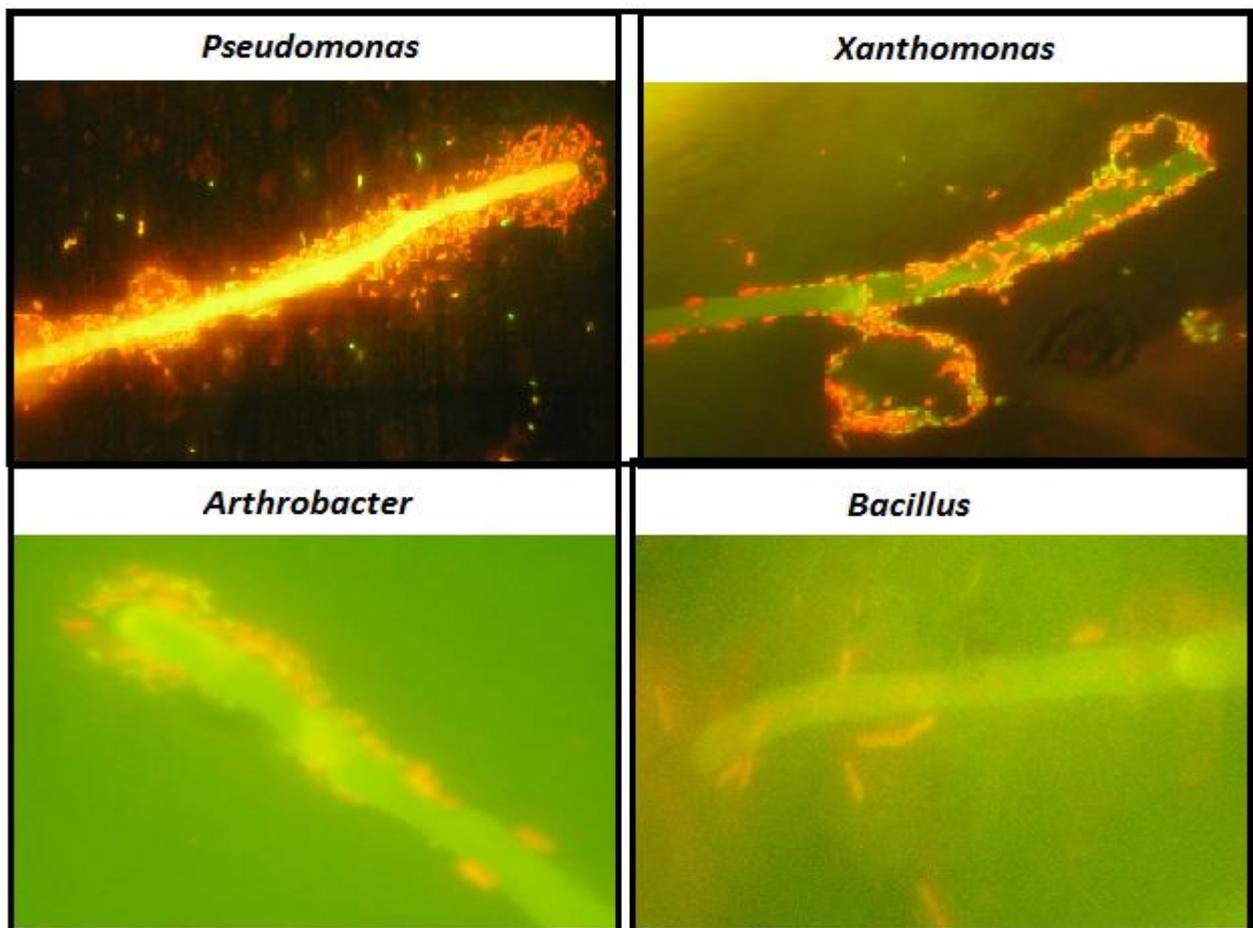


Рисунок 32. Адгезия бактерий на гифах *Clitocybe nebularis* (люминесцентная микроскопия).

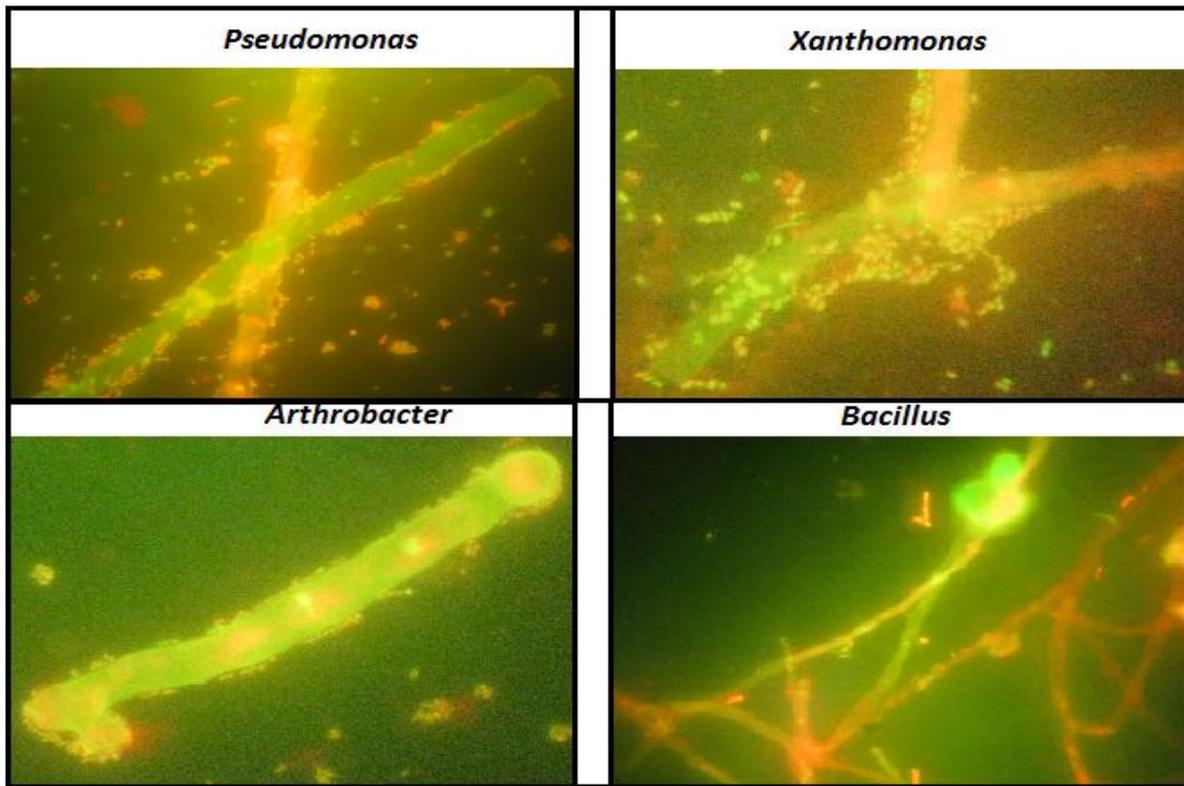


Рисунок 33. Адгезия бактерий на гифах *Coprinus comatus* (люминесцентная микроскопия).

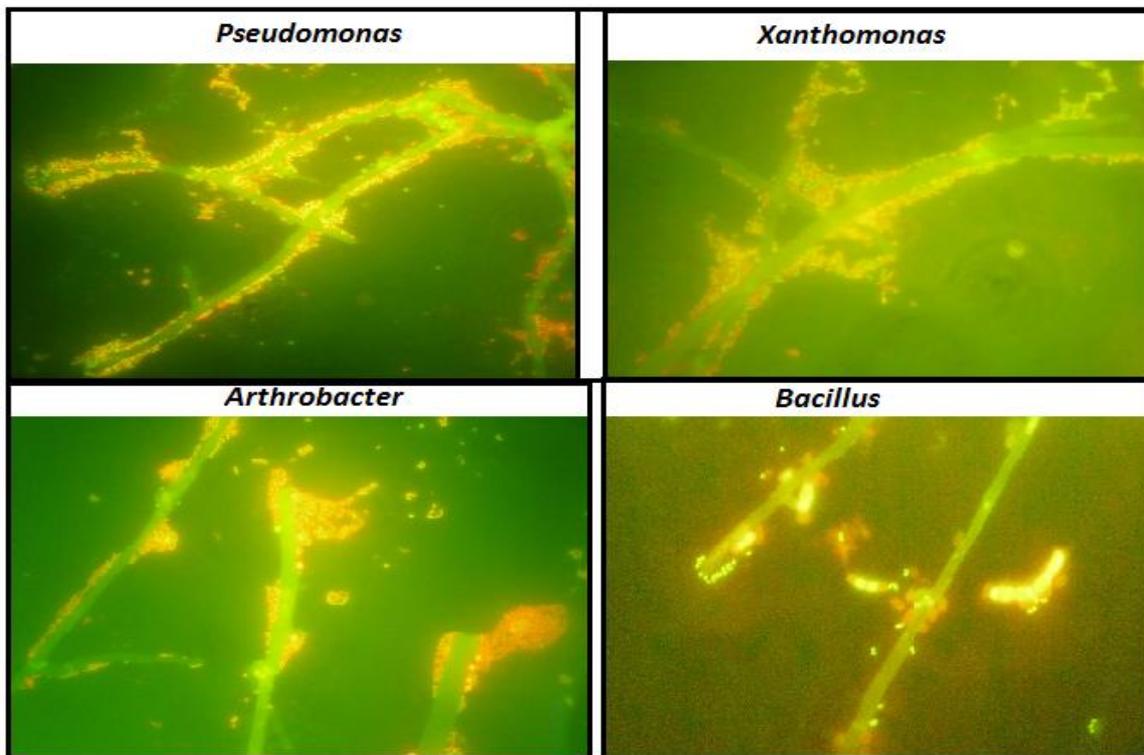


Рисунок 34. Адгезия бактерий на гифах *Phallus impudicus* (люминесцентная микроскопия).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное комплексное исследование бактериальных сообществ микоризосферы, гифосферы и плодовых тел 34 видов базидиомицетов, принадлежащих к 20 семействам, трем морфологическим и эколого-трофическим группам в природных условиях, позволяет заключить, что исследованные почвенные локусы являются специфическими местообитаниями для бактерий, различающимися по показателям общей численности, численности сапротрофных бактерий и структуре сапротрофного бактериального комплекса.

Бактериальный комплекс гифосферы представляет собой своеобразное экотонное сообщество, отражающие в своем составе черты сообществ, обитающих в резко отличающихся друг от друга условиях: богатый корневыми выделениями растений и продуктами разложения полимеров, а также грибными метаболитами локус – микоризосфера, и более бедный – вне колоний базидиомицетов (контрольная почва).

Бактериальный комплекс микоризосферы, формируемый эктомикоризообразующими видами базидиомицетов, оказывается существенно отличающимся от гифосферы и контрольной почвы. Доминирование рода *Pseudomonas* в бактериальном комплексе микоризосферы указывает на важную роль этого таксона во взаимоотношениях с микоризированной корневой системой растений.

Еще один важный локус, образуемый базидиомицетами на поверхности почвы во влажные, теплые периоды года, – плодовые тела базидиомицетов. Бактериальные комплексы плодовых тел базидиомицетов проявляют определенное сходство между собой и отличаются от бактериальных комплексов гифосферы и контрольной почвы. Структуры бактериальных комплексов плодовых тел базидиомицетов в значительной степени зависят от возраста и способа разложения плодового тела, при этом доминируют бактерии родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*. О частом обнаружении бактерий рода *Pseudomonas* на поверхности плодовых тел уже сообщалось ранее, для них был

предложен термин “фунгифилы” (Warmink *et al.*, 2009). Очевидно, что представители рода *Pseudomonas*, тесно связанные с базидиомицетами, играют важную роль в лесном биоценозе.

Очевидно, что в разные периоды года воздействие базидиомицетов на бактериальное сообщество почвы будет различно, в меньшей степени оно будет проявляться в сухой и холодный период, в большей степени во влажный и теплый период (конец лета – осень). Разлагающиеся плодовые тела, обогащенные граммотрицательными бактериями, в особенности представителями рода *Pseudomonas*, при попадании на поверхность подстилки и далее в почву вносят важный вклад в формировании структуры бактериальных комплексов в пределах колоний базидиомицетов.

Воздействие базидиомицетов на бактериальное сообщество почвы разнообразно и многогранно, и связано как с поступлением легкометаболизируемых субстратов вследствие экзогидролазной активности грибов, так и непосредственным воздействием биологически активных веществ, конкуренцией за азот в условиях его дефицита в почве и непосредственным поступлением граммотрицательных бактерий из тканей разлагающихся плодовых тел на поверхность почвы.

В целом полученные нами результаты подтверждают концепцию об активном влиянии базидиомицетов на почвенные бактериальные комплексы почвы лесных экосистем, высказанную Л.Л. Великановым (1997). Базидиомицеты, являясь эдификаторами по отношению к бактериям в почве лесного биоценоза, могут рассматриваться подобно почвенным животным как «экосистемные инженеры» (Тиунов, 2007).

ВЫВОДЫ

1. Показатели общей численности бактерий в гифосфере большинства видов афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов выше, чем в контрольной почве в 2 раза, а в гифосфере большинства видов агариикоидных базидиомицетов – ниже, чем в контроле 2,8-1,3 раза. Численность сапротрофных бактерий в гифосфере большинства видов базидиомицетов выше, чем в контроле в 2-36 раз.
2. Бактериальные комплексы гифосферы гастероидных и афиллофороидных базидиомицетов проявляли значительное сходство между собой и отличались от такового агариикоидных базидиомицетов. Сапротрофный бактериальный комплекс гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы проявляет значительное сходство у большинства изученных видов.
3. Впервые в гифосфере базидиомицетов (*Clitocybe nebularis*, *Lycoperdon perlatum*) обнаружены представители филумов *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes*, содержание которых составляло более 10%, выявляемых методом FISH.
4. Сапротрофный бактериальный комплекс микоризосферы базидиомицетов значительно отличался от такового гифосферы и контрольной почвы. Бактериальные комплексы гифосферы и контрольной почвы исследованных базидиомицетов не составляли отдельных кластеров и проявляли большее сходство друг с другом, чем каждый из них с микоризосферой.
5. Численность бактерий в плодовых телах базидиомицетов составляла десятки млрд. клеток/г, и значительно увеличивалась по мере старения плодового тела базидиомицета, независимо от механизма его деструкции: автолиз у *Coprinus comatus*, разложение личинками мицетофилод у *Armillaria mellea*.

6. Показано, что структура сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов зависит от способа их разложения и характеризуется доминированием бактерий родов *Aeromonas* и *Vibrio* (плодовые тела *Armillaria mellea*) и бактерий рода *Pseudomonas* (плодовые тела *Coprinus comatus*).
7. Изучение адгезии бактерий на гифах грибов (*Clitocybe nebularis*, *Phallus impudicus*, *Coprinus comatus*) в модельном опыте свидетельствует о специфике процесса у представителей родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Arthrobacter* и *Bacillus*: псевдомонады и ксантомонады образовывали многослойную биопленку, артробактер – скопления клеток на концах и точках ветвления гиф, а бациллы – практически не адгезировались.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аристовская Т.В. Микробиология подзолистых почв // М.: Наука. 1965. 187 с.
2. Болотина И. Н., Мирчинк Т. Г. Распространение марганецокисляющих микроорганизмов в почвах // Почвоведение. 1975. № 6. С. 64-68.
3. Великанов Л.Л. Роль грибов в формировании мико- и микробиоты почв естественных и нарушенных биоценозов и агроэкосистем. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. 1997.
4. Великанов Л.Л., Сидорова И.И. Некоторые биохимические аспекты в экологии грибов // Успехи микробиологии. 1983. Т.18. С. 112-132.
5. Великанов Л.Л., Сидорова И.И. Регуляция высшими базидиомицетами структуры мико- и микробиоты почв и подстилки лесных экосистем. I. Влияние базидиомицетов на численность грибов и бактерий // Микол. и фитопатол. 1997. Т. 31. № 4. С. 20 - 26.
6. Великанов Л.Л., Сидорова И.И. Регуляция высшими базидиомицетами структуры мико- и микробиоты почв и подстилки лесных экосистем. II. Влияние базидиомицетов на видовое разнообразие почвенных микромицетов // Микол. и фитопатол. 1998. Т. 32. № 1. С. 33 - 36.
7. Великанов Л. Л., Сидорова И. И. Роль грибов в формировании мико- и микробиоты почв естественных биоценозов // Труды звенигородской биологической станции. 2001. Том 3. С. 61-71.
8. Великанов Л.Л., Сидорова И.И., Александрова А.В., Воронина Е.Ю. Пространственное распределение мико- и микробиоты почв в колониях доминантных видов базидиомицетов в ельниках различных типов // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39, вып. 2. С. 19-26.
9. Воронина Е.Ю. Микоризы в наземных экосистемах: экологические, физиологические и молекулярно-генетические аспекты микоризных симбиозов // В кн.: Микология сегодня. Т. 1. Под ред. Дьякова Ю.Т., Сергеева Ю.В. М.: Национальная академия микологии, 2007. С. 142-234.

10. Воронина Е.Ю. Численность почвообитающих бактерий и микромицетов в ризосфере, гифосфере и микоризосфере симбиотрофных базидиомицетов // Микол. и фитопатол. 2009. Т. 43. Вып. 5. С. 398-406.
11. Горбунова И.А., Власенко В.А., Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Михайловская И.Н. Ресурсы лекарственных грибов на юге Западной Сибири.// Хвойные бореальной зоны, XXVI, № 1, 2009.
12. Добровольская Т. Г. Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ «Академкнига», 2002. 282 с.
13. Дубинина Г. А. Биология железобактерий и их роль в образовании железомарганцевых руд: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1977. 25 с.
14. Дылис Н.В. Основы биогеоценологии. М., Изд-во МУ, 1978. - 152 с.
15. Звягинцев Д. Г., Добровольская Т. Г., Бабьева И. П. и др. Роль микроорганизмов в биогеоценологических функциях почв // Структурно-функциональная роль почвы в биосфере. М.: Геос, 1999. С. 113-121.
16. Ищенко И. А. Взаимодействие между дождевыми червями и микроскопическими грибами: Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 1995. 24 с.
17. Каратыгин И. В. Коэволюция грибов и растений. – СПб.: Гидрометеиздат, 1993. 116 с.
18. Кураков А. В. Некоторые аспекты экологии везикулярно-арбускулярной микоризы // Сельскохозяйственная биология. – 1985. № 10. С. 101-110.
19. Лысак Л. В., Добровольская Т. Г., Скворцова И. Н. Методы оценки бактериального разнообразия и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС Пресс. 2003 – перераб. и доп. изд. 120 с.
20. Лысак Л.В. Бактериальные сообщества городских почв. Докторская диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. 2010. 304 с.
21. Манучарова Н.А. Идентификация метаболически активных клеток прокариот в почвах с применением молекулярно-биологического

флюоресцентномикроскопического метода анализа *fluorescence in situ hybridization (FISH)* // М. Издательство МГУ. 2008. 24 с.

22. Манучарова Н.А. Гидролитические прокариотные комплексы наземных экосистем. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. 2012.

23. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология: Учебник. – М.: Изд-во МГУ, 1988. 220 с.

24. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Пер. с англ./ Под редакцией Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир. 1997. 700 с.

25. Перфильев Б. В., Габе Д. Р. Капиллярные методы изучения микроорганизмов. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1996. 534 с.

26. Полякова А.В., Чернов И.Ю. Дрожжи в плодовых телах макромицетов. // Микология и фитопатология. 1999. Т. 33. № 2. С. 81-86.

27. Полянская Л. М., Мирчинк Т. Г. Структура комплексов почвенных микромицетов в ходе микробной сукцессии // Микроорганизмы в сельском хозяйстве. М.: Изд-во МГУ, 1986. С. 42-44.

28. Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Содержание и структура микробной биомассы как показатель экологического состояния почв. // Почвоведение. 2005. №6. С. 706-714.

29. Рослякова П. В. Особенности накопления органического вещества и формирования гумуса в почвах искусственно-созданных экосистем Ботанического сада МГУ им. М.В. Ломоносова. Дипломная работа. 2014.

30. Сидорова И.И., Александрова А.В., Воронина Е.Ю. Микробиота гифосферы агарикоидных базидиомицетов-подстилочных сапротрофов и симбиотрофов // Сборник материалов V Международная конференция «Изучение грибов в биогеоценозах», Пермь 2009. С. 239-243.

31. Сидорова И. И., Великанов Л. Л. Биологически активные вещества агарикоидных базидиомицетов и их роль в регулировании структуры мико- и

микробиоты почв лесных экосистем//Микология и фитопатология. 2000. Том 34. Вып. 3. С. 11-16.

32. Сидорова И.И., Великанов Л.Л. Регуляция базидиомицетами пространственной организации микробиоты почв и подстилки в лесных биогеоценозах // Экология и плодonoшение макромицетов-симбиотрофов древесных растений. Петрозаводск, 1992. С. 24-25.

33. Тиунов А. В. Метабиоз в почвенной системе: влияние дождевых червей на структуру и функционирование почвенной биоты: автореф. дис. ... д-ра биол. наук 03.02.03 / Тиунов Алексей Владимирович. – Москва, 2007. – 44 с.

34. Фомичева О.А., Полянская Л.М., Никонов В.В., Лукина Н.В., Орлова М.А., Исаева Л.Г., Звягинцев Д.Г. Численность и биомасса микроорганизмов в коренных старовозрастных северо-таежных еловых лесах. Почвоведение. 2006. №12. С. 1469-1478.

35. Andrade G., Mihara K.L., Linderman R.G., Bethlenfalvay G.J. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi // Plant & Soil. 1997. Vol. 192. P. 71-79.

36. Artursson V, Finlay RD, Jansson JK. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth // Environ. Microbiol. 2006. Vol.8. P.1–10.

37. Assigbetse K., Gueye M., Thioulouse J., Duponnois R. Soil bacterial diversity responses to root colonization by an ectomycorrhizal fungus are not root-growth-dependent // Microb. Ecol. 2005. Vol. 50. P. 350-359.

38. Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms // Plant Biology. 2006. Vol. 57. P. 233-266.

39. Balogh-Brunstad Z., Keller C.K., Gill R.A., Bormann B.T., Li C.Y. The effect of bacteria and fungi on chemical weathering and chemical denudation fluxes in pine growth experiments // Biogeochemistry. 2008. Volume 88, issue 2. P.152-167.

40. Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C. Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure // Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. Soil Biology. Volume 3, 2005. P. 195-212.
41. Barros L., Venturini B.A., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I. C. F. R. Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study // J. Agric. Food Chem. 2008. Vol.56, № 10. P.3856-3862.
42. Bending G.D., Poole E.J., Whipps J.M., Read D.J. Characterisation of bacteria from *Pinus sylvestris*-*Suillus luteus* mycorrhizas and their effects on root-fungus interactions and plant growth // FEMS Microbiol. Ecol. 2002. Vol. 39.P. 219 – 227.
43. Bertaux, J., Schmid, M., Chemidlin Prevost-Boure. N., Churin, J. L., Hartmann, A., Garbaye, J. and Frey-Klett, P. In situ identification of intracellular bacteria related to *Paenibacillus* spp. In the mycelium of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S_{238N} // Appl. Environ. Microbiol. 2003. Vol. 69. P. 4243-4248.
44. Bianciotto V, Andreotti S, Balestrini R, Bonfante P, Perotto S. Mucoid mutants of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0 show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots // Mol. Plant. Microbe. Interact. 2001. Vol.14. P.255–260.
45. Boersma, F.G.H., Andreote, F.A., Warmink, J.A., Van Elsas, J.D., 2009. Selection of Sphingomonadaceae at the base of *Laccaria proxima* and *Russula exalbicans* fruiting bodies. Applied and Environmental Microbiology 75, P.1979-1989.
46. Bomberg M. Archaea in the Mycorrhizosphere of Boreal Forest Trees / Doctoral dissertation. 2008. 46 p.
47. Bonfante Paola, Anca Iulia-Andra. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions // Annu. Rev. Microbiol. 2009. Vol.63. P.363–383.
48. Bowen G.D. The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning // Plant & Soil. 1994. Vol. 159.P. 61 - 67.
49. Bowen G.D., Theodorou C. Interaction between bacteria and ectomycorrhizal fungi // Soil Biol. Biochem. 1979. Vol. 11. № 2. P. 119 - 126.

50. Breheret S., Talou T., Rapior S., Bessiere J.-M. Monoterpenes in the Aromas of Fresh Wild Mushrooms (Basidiomycetes) // J. Agric. Food Chem., Vol. 45, No. 3, 1997. P.: 831-836.
51. Brundrett M.C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants // New Phytol. 2002. Vol. 154. P. 275-304.
52. Budi, S. W., van Tuinen, D., Arnould, C., Dumas-Gaudot, E., Gianiazzi Pearson, V. and Gianinazzi, S. Hydrolytic enzyme activity of *Paenibacillus* sp. Strain B2 and effect of the antagonistic bacterium on cell integrity of two soil-borne pathogenic fungi // Appl. Soil Ecol. 2000. Vol. 15. P. 191-199.
53. Bull, C. T. Interaction between myxobacteria, plant pathogenic fungi, and biocontrol agencies. Plant Dis. 2002. Vol. 86. P. 889-896.
54. Cairney J.W.G., Meharg A.A. Interactions between ectomycorrhizal fungi and soil saprotrophs: implications for decomposition and degradation of organic pollutants in the rhizosphere // Can. J. Bot. 2002. Vol. 80. P. 803-809.
55. Cerigini E, Palma F, Barbieri E, Buffalini M, Stocchi V. The *Tuber borchii* fruiting body-specific protein TBF-1, a novel lectin which interacts with associated *Rhizobium* species // FEMS Microbiol. Lett. 2008. Vol. 284. P. 197-203.
56. Chanway C.P., Holl F.B. Biomass increase and associative nitrogen fixation of mycorrhizal *Pinus contorta* seedlings inoculated with a plant growth promoting *Bacillus* strain // Can. J. Bot. 1991. Vol. 69. P. 507-511.
57. Curl E.A., Truelove B. The Rhizosphere. Berlin, Springer-Verlag. 1986. P. 228.
58. Dahm H., Strzelczyk E., Ciesielska A. The effect of ectomycorrhizal fungi and bacteria on pine seedlings // Acta Mycologica. 1988. Vol. 33. № 1. P. 25 – 36.
59. Dahm H., Wrotniak W., Strzelczyk E. Diversity of culturable bacteria associated with fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi // Phytopathol. Pol. 2005. V. 38. P. 51-62.
60. Danell E., Alström S., Ternström A. *Pseudomonas fluorescens* in association with fruit bodies of the ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius* // Mycol. Res. 1993. Vol. 97. P. 1148-1152.

61. Dawid, W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils // FEMS Microbiol. Rev. 2000. Vol. 24. P. 403-427.
62. De Boer W., Folman L. B., Summerbell R. C., Boddy I. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development // FEMS Microbiology Reviews. 2005. Vol. 29. P. 795-811.
63. de Weert S, Kuiper I, Lagendijk EL, Lamers GEM, Lugtenberg BJJ. Role of chemotaxis toward fusaric acid in colonization of hyphae of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici* by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 // Mol. Plant. Microbe. 2004. Vol.17. P.1185–1191.
64. Deveau A., Palin B., Delaruelle C., Peter M., Kohler A., Pierrat J.C., Sarniguet A., Garbaye J., Martin F., Frey-Klett P. The mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 has a specific priming effect on the growth, morphology and gene expression of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N // New Phytol. 2007. Vol. 175. P. 743-755.
65. Deveau A., Brulé C., Palin B., Champmartin D., Rubini P., Garbaye J., Sarniguet A., Frey-Klett P. Role of fungal trehalose and bacterial thiamine in the improved survival and growth of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N and the helper bacterium *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 // Environmental Microbiology Reports. 2010. Vol. 2. № 4. P.560–568.
66. Duponnois R., Colombet A., Hien V., Thioulouse J. The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea* // Soil. Biol. Biochem. 2005. Vol.37. P.1460–1468.
67. Duponnois R., Kisa M. The possible role of trehalose in the mycorrhiza helper bacterium effect // Canadian Journal of Botany. 2006. Vol. 84, issue 6. P. 1005-1008.
68. Entry J.A., Rose C.L., Cromack K. Litter decomposition and nutrient release in ectomycorrhizal mat soils of a Douglas-fir ecosystem // Soil Biol. Biochem. 1991. Vol. 23. P. 285-290.

69. Filion M., Arnaud M.St., Fortin J.A. Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms // *New Phytol.*, 1999. Vol.141. P. 522-533.
70. Finlay R.D. Mycorrhizal symbiosis: myths, misconceptions, new perspectives and future research priorities // *Mycologist*. 2005. Vol 19. № 3. P. 90-95.
71. Founoune H., Duponnois R., Bâ A.M., Sall S., Branget I., Lorquin J., Neyra M., Chotte J.L. Mycorrhiza helper bacteria stimulate ectomycorrhizal symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus albus* // *New Phytol.* 2002. Vol. 153. P. 81-89.
72. Freiberg C., Fellay R., Bairoch A., Broughton W.J., Rosenthal A., Perret, X. Molecular basis of symbiosis between *Rhizobium* and legumes // *Nature*. 1997. Vol.387. P.394–401.
73. Frey P. , Frey-Klett P. , Garbaye J., Berge O., Heulin T. Metabolic and genotypic fingerprinting of fluorescent pseudomonads associated with Douglas fir – *Laccaria bicolor* mycorrhizosphere // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997a. Vol. 63. P. 1852-1860.
74. Frey-Klett P. , Chavatte M., Clause M.-L., Courrier S., Le Roux C., Raaijmakers J., Martinotti M.-G., Pierrat J.-C., Garbaye J. Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads // *New Phytol.* 2005. Vol. 165. P. 317–328.
75. Frey-Klett P., Garbaye J. Mycorrhiza helper bacteria: a promising model for the genomic analysis of fungal-bacterial interactions // *New Phytol.* 2005. Vol. 168. P. 4-8.
76. Frey-Klett P., Garbaye J., Tarkka M. The mycorrhiza helper bacteria revisited // *New Phytol.* 2007. Vol. 176. P. 22-36.
77. Frey-klett P., Pierrat J. C., Garbaye J. Location and survival of mycorrhiza helper *Pseudomonas Fluorescens* during establishment of ectomycorrhizal symbiosis between *Laccaria bicolor* and Douglas fir // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997b. Vol. 63. № 1. P. 139-144.
78. Gao, J.M., Yang, X., Wang, C.Y. and Liu, J.K. Armillaramide, a new sphingolipid from the fungus *Armillaria mellea* // *Fitoterapia*. 2001. Vol.72. P.858–864.

79. Garbaye J., Bowen G.D. Stimulation of mycorrhizal infection of *Pinus radiata* by some microorganisms associated with the mantle of ectomycorrhizas // *New Phytol.* 1989. Vol. 112. P. 383-388.
80. Garbaye J. Helper bacteria: A new dimension to the mycorrhizal symbiosis // *New Phytol.* 1994. Vol. 128. P. 197-210.
81. Gezer K., Duru ME., Kivrak I., Turkoglu A., Mercan N., Turkoglu H., Gulcan S. Free-radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey // *African Journal of Biotechnology.* 2006. Vol. 5, № 20.P. 1924-1928.
82. Graham J.H. Interactions of mycorrhizal fungi with soilborne plant pathogens and other organisms // *Phytopathology.* 1988. Vol. 78. P. 365-366.
83. Griffiths RP, Baham JE, Caldwell BA. Soil solution chemistry of ectomycorrhizal mats in forest soil // *Soil Biology and Biochemistry.* 1994. Vol.26. P.331–337.
84. Harrington T.J., Mitchell D.T. Colonization of root systems of *Carex flacca* and *C. pilulifera* by *Cortinarius (Dermocybe) cinnamomeus* // *Mycol. Res.* 2002. Vol. 106. P. 452-459.
85. Hartmann A., Pukall R., Rothballer M., Gantner S., Metz S.,Schloter M., Mogge B. Microbial Community Analysis in the Rhizosphere by in Situ and ex Situ Application of Molecular Probing, Biomarker and Cultivation Techniques // *Plant Surface Microbiology.* 2004. P. 449-469.
86. Hogan DA, Vik A, Kolter R. A *Pseudomonas aeruginosa* quorumsensing molecule influences *Candida albicans* morphology // *Molecular Microbiology.* 2004. Vol.54. P.1212–1223.
87. Hrynkiewicz Katarzyna, Ciesielska Agnieszka, Haug Ingeborg, Baum Christel. Ectomycorrhiza formation and willow growth promotion as affected by associated bacteria: role of microbial metabolites and use of C sources // *Biol. Fertil. Soils.* 2010. Vol.46. P.139-150.

88. Izumi H, Anderson IC, Alexander IJ, Killham K, Moore ER. Endobacteria in some ectomycorrhiza of Scots pine (*Pinus sylvestris*) // *FEMS Microbiology and Ecology*. 2006. Vol.56. P.34–43.
89. Jang M., Lee Y., Liu., Ju Y. Optimal Conditions for the Mycelial Growth of *Coprinus comatus* Strains // *Mycobiology*. 2009. Vol. 37. № 2. P. 103-108.
90. Johansson J.F., Paul L.R., Finlay R.D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2004. Vol.48. P.1-13.
91. Kamada T., Hamada Y., Takemaru T. Autolysis in vitro of the Stipe Cell Wall in *Coprinus macrorhizus* // *Journal of General Microbiology*. 1982. № 128. P.104 1-1046.
92. Kamilova F, Lamers G, Lugtenberg B. Biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 inhibits germination of *Fusarium oxysporum* spores in tomato root exudate as well as subsequent formation of new spores // *Environ. Microbiol.* 2008. Vol.10. P.2455–2461.
93. Katznelson H., ronatt J. W., Peterson E. A. The rhizosphere effect of mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of yellow birch seedlings // *Canad. J. Botany*. 1962. Vol. 40. P. 377-382.
94. Kemnitz D., Kolb S., Conrad R. High abundance of Crenarchaeota in a temperate acidic forest soil // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2007. Vol. 60. P. 442-448.
95. Kendrick B. *The Fifth Kingdom*. Focus Information Group, Newburyport, MA., 2001. P. 373.
96. Kluber Laurel A., Smith Jane E., Myrold David D. Distinctive fungal and bacterial communities are associated with mats formed by ectomycorrhizal fungi // *Soil Biology & Biochemistry*. 2011. Vol.43. P.1042-1050.
97. Koide R.T., Mosse B. A history of research on arbuscular mycorrhiza // *Mycorrhiza*. 2004. Vol. 14. P. 145-163.

98. Kohlmeier S, Smits THM, Ford RM, Keel C, Harms H, Wick LY. Taking the fungal highway: mobilization of pollutant-degrading bacteria by fungi // *Environ. Sci. Technol.* 2005. Vol.39. P.4640–4646.
99. Konno N., Sakamoto Y. An endo- β -1,6-glucanase involved in *Lentinula edodes* fruiting body autolysis // *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2011. Vol. 91. Issue 5. P. 1365-1373.
100. Kothamasi D., Kuhad R.C., Babu C.R. Arbuscular mycorrhizae in plant survival strategies // *Tropical Ecology.* 2001. Vol. 42. № 1. P. 1-13.
101. Leveau JHJ, Preston G.M. Bacterial mycophagy: definition and diagnosis of a unique bacterial–fungal interaction // *New Phytologist.* 2007. № 177 P. 859–876.
102. Levy A., Chang B.J., Abbott L.K., Kuo J., Harnett G., Inglis T.J. Invasion of spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora decipiens* by *Burkholderia* sp. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol.69. P.6250-6256.
103. Li B., Dobruchowska J.M., Gerwig G.J., Dijkhuizen L., Kamerling J.P. Structural investigation of water-soluble polysaccharides extracted from the fruit bodies of *Coprinus comatus* // *Carbohydrate Polymers.* 2013. Volume 91, Issue 1. P. 314–321.
104. Li C.Y., Massicotte H.B., More L.V.H. Nitrogen-fixing *Bacillus* sP. associated with Douglas-fir tuberculate ectomycorrhizae // *Plant & Soil.* 1992. Vol. 140. P. 35-40.
105. Lim H., Choi H. Enhanced expression of chitinase during the autolysis of mushroom in *Coprinellus congregatus* // *The Journal of Microbiology.* 2009. Volume 47. Issue 2. P. 225-228.
106. Linderman R. G. Mycorrhizal interactions with the Rhizosphere microflora: The mycorrhizosphere effect // *Phytopathology.* 1988. Vol. 78. № 3. P. 366-371.
107. Lopez MF, Manner P, Willmann A, Hampp R, Nehls U. Increased trehalose biosynthesis in the Hartig net hyphae of ectomycorrhizas. // *New Phytologist.* 2007. Vol.174. P.389–398.

108. Luo H., Mo M., Huang X., Li X., Zhang K. *Coprinus comatus*: A basidiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematode // *Mycologia*. 2004. Vol. 96. № 6. P. 1218-1224.
109. Marschner H., Dell B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis // *Plant & Soil*. 1994. Vol. 159. P. 89 – 102.
110. Marie C, Broughton WJ, Deakin WJ. *Rhizobium* type III secretion systems: legume charmers or alarmers? // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2001. Vol.4. P.336–342.
111. Marx D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria // *Phytopathology*. 1969. Vol. 59. P. 153 - 163.
112. Massicotte H.B., Melville L.H., Peterson R.L., Luoma D.L. Anatomical aspects of field ectomycorrhizas on *Polygonum viviparum* (Polygonaceae) and *Kobresia bellardii* (Cyperaceae) // *Mycorrhiza*. 1998. Vol. 7. P. 287-292.
113. Medeiros PM, Fernandes MF, Dick RP, Simoneit BRT. Seasonal variations in sugar contents and microbial community in a ryegrass soil // *Chemosphere*. 2006. Vol.65. P.832–839.
114. Mennink-Kersten M.A., Ruegebrink D., Verweij P.E. *Pseudomonas aeruginosa* as a cause of 1, 3- β -D-glucan assay reactivity // *Clin. Infect. Dis.* 2008. Vol.46. P.1930-1931.
115. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria // *Annu. Rev. Microbiol.* 2001. Vol.55. P.165–199.
116. Molecular Probes, Inc. 1994. LIVE/DEAD BacLight bacterial viability kit (L7012), instruction manual with appendix. Molecular Probes.
117. Molina R., Massicotte H., Trappe J.M. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications // Allen M.F. (Ed.) *Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process*, N.Y., Chapman and Hall, 1992. P. 357-423.
118. Morandi D. Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions and their potential role in biological control // *Plant & Soil*. 1996. Vol. 85. P. 241-251.

119. Mosse B. The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza // Trans. Br. Mycol. Soc. 1959. Vol. 42. P. 273-286.
120. Nazir Rashid, Warmink Jan A., Boersma Hidde, van Elsas Jan Dirk. Mechanisms that promote bacterial fitness in fungal-affected soil microhabitats // FEMS Microbiol. Ecol. 2010. Vol.71. P.169–185.
121. Newman E.I., Reddell P. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants // New Phytol. 1987. Vol. 106. P. 745-751.
122. Newsham K.K., Fitter A.H., Watkinson A.R. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field // J. Ecol. 1995. Vol. 83. P. 991-1000.
123. Nicol G.W., Tscherko D., Embley T.M., Prosser J.I. Primary succession of soil Crenarchaeota across a receding glacier foreland // Environ. Microbiol. 2005. Vol.7. P. 337-347.
124. Nukata M., Hashimoto T., Yamamoto I., Iwasaki N., Tanaka M., Asakawa Y. Neogrifolin derivatives possessing anti-oxidative activity from the mushroom *Albatrellus ovinus* // Phytochemistry. 2002. Volume 59, Issue 7. Pages 731–737.
125. Nurmiäho-Lassila E-L., Timonen S., Haahtela K., Sen R. Bacterial colonisation patterns of intact Scots pine mycorrhizospheres in dry pine forest soil // Can J. Microbiol. 1997. Vol. 43. P. 1017-1035.
126. Partida-Martinez LP, Hertweck C. A gene cluster encoding rhizoxin biosynthesis in ‘*Burkholderia rhizoxina*’, the bacterial endosymbiont of the fungus *Rhizopus microspores* // ChemBiochem. 2007. Vol. 8. P. 41–45.
127. Poole E.J., Bending G.D., Whipps J.M., Read D.J. Bacteria associated with *Pinus sylvestris* – *Lactarius rufus* ectomycorrhizas and their effects on mycorrhiza formation *in vitro* // New Phytol. 2001. Vol. 151. P. 743 – 751.
128. Pozo M.J., Cordier C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Barea J.M., Azcón-Aguilar C. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants // J. Exp. Bot. 2002. Vol. 53. P. 525-534.

129. Rangel-Castro J.I., Levenfors J.J., Danell E. Physiological and genetic characterization of fluorescent *Pseudomonas* associated with *Cantharellus cibarius* // *Can. J. Microbiol.* 2002. Vol. 48. P. 739 – 748.
130. Read D.J., Leake J.R., Perez-Moreno J. Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes // *Can. J. Bot.* 2004. Vol. 82. P. 1243-1263.
131. Riedlinger J, Schrey SD, Tarkka MT, Hampp R, Kapur M, Fiedler HP. Auxofuran, a novel substance stimulating growth of fly agaric, produced by the mycorrhiza helper bacterium *Streptomyces* AcH 505 // *Applied and Environmental Microbiology.* 2006. Vol.72. P.3550–3557.
132. Rigamonte T. A.; Pylro V. S.; Duarte G. F. The role of mycorrhization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae associations // *Brazilian Journal of Microbiology.* 2010. Vol.41. No.4. P. 832-840.
133. Rillig M.C. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes // *Ecol. Letters.* 2004. Vol. 7. P. 740-754.
134. Roesti D, Ineichen K, Braissant O, Redecker D, Wiemken A, Aragno M. Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. Vol. 71. P. 6673–6679.
135. Rózycki H., Dahm H., Strzelczyk E., Li C.Y. Diazotrophic bacteria in root-free soil and in the root zone of pine (*Pinus sylvestris* L.) and oak (*Quercus robur* L.) // *Appl. Soil Ecol.* 1999. Vol. 12. P. 239-250.
136. Sarand I, Timonen S, Nurmiäho-Lassila E-L, Koivula T, Haatela K, Romantschuk M, Sen R. Microbial biofilms and catabolic plasmid harbouring degradative fluorescent pseudomonads in Scots pine mycorrhizospheres developed on petroleum contaminated soil // *FEMS Microbiology and Ecology.* 1998. Vol.27. P.115–126.
137. Schrey S.D., Schellhammer M., Ecke M., Hampp R., Tarkka M.T. Mycorrhiza helper bacterium *Streptomyces* AcH505 induces differential gene

- expression in the ectomycorrhizal fungus *Amanita muscaria* // *New Phytol.* 2005. Vol. 168. P. 205-216.
138. Schüssler A., Schwarzott D., Walker C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution // *Mycol. Res.* 2001. Vol. 105. P. 1413-1421.
139. Sharma M., Schmid M., Rothballer M., Hause G., Zuccaro A., Imani J., Kämpfer P., Domann E., Schäfer P., Hartmann A., Kogel K.-H. Detection and identification of bacteria intimately associated with fungi of the order Sebaciales // *Cell. Microbiol.* 2008. Vol. 10. P. 2235–2246.
140. Sliwinski M.K., Goodman R.M. Comparison of crenarchaeal consortia inhabiting the rhizosphere of diverse terrestrial plants with those in bulk soil in native environments // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. Vol. 70. P.1821-1826.
141. Singh BK, Nunan N, Ridgway KP, McNicol J, Young JPW, Daniell TJ, Prosser JI, Millard P. Relationship between assemblages of mycorrhizal fungi and bacteria on grass roots // *Environ Microbiol.* 2008. Vol.10. P.534–541.
142. Smith S.E., Read D.J. *Mycorrhizal symbiosis* // Academic Press. 2008. P. 787.
143. Soler-rivas, C., Jolivet, S., Arpin, N., Olivier, J. M. and Wichers, H. J. Biochemical and physiological aspects of brown blotchdisease of *Agaricus bisporus*// *FEMS Microbiol. Rev.*1999. Vol. 23. P. 591-614.
144. Thornton R.H. Features of grows of actinomycetes in soil // *Research.* 1953. Vol. 6. P. 44-54.
145. Timonen S, Jorgensen KS, Haahtela K, Sen R. Bacterial community structure at defined locations of *Pinus sylvestris* *Suillus bovinus* and *Pinus sylvestris* *Paxillus involutus* mycorrhizospheres in dry pine forest humus and nursery peat // *Can. J. Microbiol.* 1998. Vol. 44. P. 499–513.
146. Timonen S., Marschner P. *Mycorrhizosphere concept* // Mukerji K.G., Manoharachary C., Singh J. *Microbial activity in the rhizosphere* / Berlin, Springer Verlag, 2005. P. 349.

147. Timonen S, Hurek T. Characterization of culturable bacterial populations associating with *Pinus sylvestris*-*Suillus bovinus* mycorrhizospheres // Can. J. Microbiol. 2006. Vol. 52. P. 769-778.
148. Toljander JF, Artursson V, Paul LR, Jansson JK, Finlay RD. Attachment of different soil bacteria to arbuscular mycorrhizal fungal extraradical hyphae is determined by hyphal vitality and fungal species // FEMS Microbiology Letters. 2006. № 254. P. 34–40.
149. Toljander JF, Lindahl BD, Paul LR, Elfstrand M & Finlay RD. Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure // FEMS Microbiol. Ecol. 2007. Vol.61. P.295–304.
150. Tsukamoto T., Murata H., Shirata A. Identification of non-Pseudomonad bacteria from fruit bodies of wild agaricales fungi that detoxify tolaasin produced by *pseudomonas tolaasii* // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2002. Vol. 66, № 10. P. 2201-2208.
151. Umar M., Griensven L. Morphological studies on the life span, developmental stages, senescence and death of fruit bodies of *Agaricus bisporus* // Mycol. Res. 1997. Vol. 101. № 12. P.1409-1422.
152. Uroz S, Heinonsalo J. Degradation of *N*-acyl homoserine lactone quorum sensing signal molecules by forest root-associated fungi // FEMS Microbiol. Ecol. 2008. Vol.65. P.271–278.
153. Uroz S, Calvaruso C, Turpault MP, Pierrat JC, Mustin C, Frey-Klett P. Effect of the mycorrhizosphere on the genotypic and metabolic diversity of the soil bacterial communities involved in mineral weathering in a forest soil // Applied and Environmental Microbiology. 2007. Vol.73. P.3019–3027.
154. Varese G.C., Portinaro S., Trotta A., Scannerini S., Luppi-Mosca A.M., Martinotti G. Bacteria associated with *Suillus grevillei* sporocarps and ectomycorrhizae and their effects on *in vitro* growth of mycobiont // Symbiosis 1996. № 21. P. 129–147.

155. Velikanov L.L. Agaricales s.l. as edificators and stabilizer of soil-inhabiting microorganisms in forest communities // 10th Congress of European Mycology. Abstr. Tallinn, 1989. P. 132.
156. Wallander H., Nilsson L.O., Hagerberg D., Bååth E. Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field // *New Phytol.* 2001. Vol. 151. P. 753 – 760.
157. Warmink JA, Nazir R, van Elsas JD. Universal and species-specific bacterial ‘fungiphiles’ in the mycospheres of different basidiomycetous fungi // *Environ. Microbiol.* 2009. Vol.11. P.300–312.
158. Warmink JA, van Elsas JD. Migratory response of soil bacteria to *Lyophyllum* sp. strain karsten in soil microcosms // *Appl. Environ. Microb.* 2009. Vol.75. P.2820–2830.
159. Warmink JA, van Elsas JD. Selection of bacterial populations in the mycosphere of *Laccaria proxima*: Is type III secretion involved? // *ISME J.* 2008. Vol.2. P.887–900.
160. Whiteley M, Lee K, Greenberg EP. Identification of genes controlled by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* // *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 1999. Vol.96. P.13904–13909.
161. Wiemken V. Trehalose synthesis in ectomycorrhizas a driving force of carbon gain for fungi? // *New Phytologist.* 2007. Vol.174. P.228–230.
162. Winkelmann G. Ecology of siderophores with special reference to the Fungi // *Biometals.* 2007. Vol.20. P.379–392.
163. Wu J., Zhou J., Lang Y., Yao L., Xu H., Shi H., Xu S. A polysaccharide from *Armillaria mellea* exhibits strong in vitro anticancer activity via apoptosis-involved mechanisms // *International Journal of Biological Macromolecules.* 2012. Volume 51, Issue 4. P. 663–667.
164. Yara Ricardo, Junior Walter Maccheroni, Horii Jorge, Azevedo Lu´cio Joaõ. A Bacterium Belonging to the *Burkholderia cepacia* Complex Associated with *Pleurotus ostreatus* // *Journal of Microbiology.* 2006. Vol. 44, No. 3. P.263-268.

165. Zak B. Role of mycorrhizae in root disease // *Annu. Rev. Phytopathol.* 1964. Vol. 2. P. 377-392.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица 1. Общая численность бактерий в образцах гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы, млрд. клеток/г.

Вид базидиомицета	Почвенный локус		Эколого-трофическая группа базидиомицета
	Гифосфера	Контроль	
Агарикоидные базидиомицеты			
<i>Amanita citrina</i>	4,40±0,70	12,2±0,9	ЭМ
<i>Amanita crocea</i>	21,03±1,20	22,5±1,8	ЭМ
<i>Amanita muscaria</i>	7,60±0,70	9,1±0,7	ЭМ
<i>Amanita pantherina</i>	7,5±0,7	13,5±0,8	ЭМ
<i>Amanita phalloides</i>	14,5±0,9	7,9±0,6	ЭМ
<i>Clitocybe nebularis</i>	1,8±0,24	4,0±0,38	Сапротроф
<i>Gomphidius glutinosus</i>	1,7±0,39	4,9±0,77	ЭМ
<i>Gymnopus confluens</i>	1,7±0,22	2,2±0,19	Сапротроф
Афиллофороидные базидиомицеты			
<i>Albatrellus ovinus</i>	2,5±0,42	2,9±0,38	Сапротроф
<i>Cantharellus cibarius</i>	0,44±0,03	0,16±0,01	ЭМ
<i>Clavariadelphus ligula</i>	9,4±0,88	4,7±0,73	Сапротроф/ЭМ
<i>Coltricia perennis</i>	2,2±0,23	4,7±0,73	Сапротроф/ЭМ
<i>Hydnum repandum</i>	1,5±0,4	0,84±0,07	ЭМ
<i>Onnia tomentosa</i>	0,82±0,07	0,24±0,01	Сапротроф
<i>Thelephora terrestris</i>	0,45±0,03	0,11±0,01	Сапротроф/ЭМ
Гастероидные базидиомицеты			
<i>Geastrum fornicatum</i>	1,7±0,42	1,1±0,17	Сапротроф
<i>Lycoperdon perlatum</i>	2,8±0,31	1,5±0,39	Сапротроф
<i>Phallus impudicus</i>	1,9±0,6	2,1±0,6	Сапротроф/ЭМ
<i>Scleroderma bovista</i>	0,3±0,01	0,17±0,01	Сапротроф/ЭМ
<i>Scleroderma citrinum</i>	0,7±0,005	0,9±0,04	ЭМ

Примечание: ЭМ – эктомикоризообразователь.

Таблица 2. Численность сапротрофных бактерий (млн. КОЕ/г.) в образцах гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы

Вид базидиомицета	Почвенный локус		Эколого-трофическая группа базидиомицета
	Гифосфера	Контроль	
Агарикоидные базидиомицеты			
<i>Amanita citrina</i>	17,1±0,7	2,85±0,3	ЭМ
<i>Amanita crocea</i>	11,1±0,3	15,5±0,4	ЭМ
<i>Amanita muscaria</i>	0,7±0,06	13,5±0,3	ЭМ
<i>Amanita pantherina</i>	5,0±0,2	1,6±0,04	ЭМ
<i>Amanita phalloides</i>	13,9±0,4	12,4±0,2	ЭМ
<i>Clitocybe nebularis</i>	1,2±0,2	8,1±0,1	Сапротроф
<i>Cortinarius betuletorum</i>	1,3±0,06	0,31±0,03	ЭМ
<i>Cortinarius flexipes</i>	0,24±0,05	0,2±0,01	ЭМ
<i>Gomphidius glutinosus</i>	24,5±0,9	11,0±0,5	ЭМ
<i>Gymnopus confluens</i>	4,1± 0,5	12,9±1,5	Сапротроф
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	0,77±0,04	0,25±0,02	ЭМ
<i>Hebeloma sordidum</i>	0,88±0,07	0,79±0,04	Сапротроф
<i>Laccaria laccata</i>	0,66±0,07	0,26±0,06	ЭМ
<i>Lactarius aurantiacus</i>	0,88±0,06	0,13±0,03	ЭМ
<i>Lactarius camphoratus</i>	0,96±0,04	0,28±0,02	ЭМ
<i>Lactarius flexuosus</i>	0,38±0,03	0,13±0,01	ЭМ
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	1,6±0,08	0,34±0,04	ЭМ
<i>Tricholoma fulvum</i>	0,64±0,03	0,16±0,02	ЭМ
Афиллофороидные базидиомицеты			
<i>Albatrellus ovinus</i>	1,46±0,04	2,53±0,2	Сапротроф
<i>Cantharellus cibarius</i>	7,5±0,4	0,7±0,05	ЭМ
<i>Clavariadelphus ligula</i>	17,0±0,2	0,47±0,1	Сапротроф/ЭМ
<i>Coltricia perennis</i>	0,3±0,08	0,7±0,08	Сапротроф/ЭМ
<i>Hydnum repandum</i>	13,3±0,7	12,3±0,6	ЭМ
<i>Onnia tomentosa</i>	35,0±3,1	19,3±1,0	Сапротроф
<i>Thelephora terrestris</i>	11,2±0,09	4,1±0,3	Сапротроф/ЭМ
<i>Polyporus umbellatus</i>	16,8±0,8	28,4±2,0	Сапротроф
Гастероидные базидиомицеты			
<i>Geastrum fimbriatum</i>	21,6±1,5	11,9±0,6	Сапротроф
<i>Geastrum fornicatum</i>	6,38±0,4	1,96±0,3	Сапротроф
<i>Lycoperdon perlatum</i>	7,09±0,45	2,23±0,1	Сапротроф
<i>Phallus impudicus</i>	1,9±0,3	7,3±0,08	Сапротроф/ЭМ
<i>Scleroderma bovista</i>	13,5±0,7	7,9±0,4	Сапротроф/ЭМ
<i>Scleroderma citrinum</i>	25,5±1,7	1,5±0,05	ЭМ

Таблица 3. Доля отдельных таксонов (в %) бактерий в составе сапротрофного бактериального комплекса гифосферы и контрольной почвы базидиомицетов.

Образец		<i>Bacillus</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>Cytophaga</i>	<i>Sporocytophaga</i>	<i>Methylobacterium</i>	<i>Janthilobacterium</i>	<i>Spirillum</i>	<i>Chromobacterium</i>	<i>Aquaspirillum</i>	<i>Pseudomonas</i>
Агарикоидные базидиомицеты																
<i>Amanita citrina</i>	Гифосфера	0	7,6	0,3	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	34,9
	Контроль	5,9	11,8	5,9	2,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	58,8
<i>Amanita crocea</i>	Гифосфера	9,6	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73,9
	Контроль	5,4	15	13,1	38,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6,9
<i>Amanita muscaria</i>	Гифосфера	13,9	55,6	18,1	12,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Контроль	14,9	7,9	17,8	17,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27,2
<i>Amanita pantherina</i>	Гифосфера	2,5	35,8	0	9,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	44,4
	Контроль	7,9	37,9	1	26,1	0	0	0	0	0	0	0	0	3,9	0	19,7
<i>Amanita phalloides</i>	Гифосфера	6,8	9,1	0	10,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,6
	Контроль	5,1	15,3	12,4	32,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14,1
<i>Clitocybe nebularis</i>	Гифосфера	9,4	5,7	16,9	5,7	5,7	15	5,6	13,2	0	0	0	0	0	5,7	5,7
	Контроль	11,4	8,6	7,7	13,4	2	0	11,4	0	0	18,6	0	0	0	0	0
<i>Cortinarius betuletorum</i>	Гифосфера	97,1	0	0	0,3	0,3	0	0	2,2	0	0	0	0	0	0	0,1
	Контроль	87,7	0	8,6	1,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cortinarius flexipes</i>	Гифосфера	60	0	0	0	15	0	0	22,5	0	0	0	0	0	0	0
	Контроль	86,7	0	0	0	0	0	0	8,9	0	0	0	0	0	0	0

Продолжение таблицы 3.

Образец		<i>Bacillus</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>Cytophaga</i>	<i>Sporocytophaga</i>	<i>Methylobacterium</i>	<i>Janthilobacterium</i>	<i>Spirillum</i>	<i>Chromobacterium</i>	<i>Aquaspirillum</i>	<i>Pseudomonas</i>
Агарикоидные базидиомицеты																
<i>Gomphidius glutinosus</i>	Гифосфера	9,9	5,2	1,5	5,8	0	2,3	0	2,4	0	0	0	0	0	0	22,5
	Контроль	3,7	3,7	1,3	4,7	0	2,8	0	3,7	0	0	0	0	0	0	20,3
<i>Gymnopus confluens</i>	Гифосфера	14,8	0	7,6	14,8	0	7,4	0	7,4	0	0	22	0,2	0	0,1	10,2
	Контроль	7,1	50	7,1	1,8	1,8	0	0	3,6	1,8	0	7,1	0	0	5,4	0
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	Гифосфера	65,5	0	0	0	10,1	0	0	0,7	0	0	0	0	0	0	23
	Контроль	76,1	0	8,7	0	0	0	0	14,2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hebeloma sordidum</i>	Гифосфера	27,3	8	10,2	2,3	18,2	4,5	0	9,1	0	0	0	0	0	0	0
	Контроль	13,9	13,9	5,1	5,1	11,4	10,1	0	5,1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Laccaria laccata</i>	Гифосфера	58	0	20	2	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0
	Контроль	95,6	0	0	0,7	0,6	0	0	2,4	0	0	0	0	0	0	0,7
<i>Lactarius aurantiacus</i>	Гифосфера	58,1	0	3,2	9,7	0	0	0	29	0	0	0	0	0	0	0
	Контроль	97,8	0	0	0	0,1	0	0	1,2	0	0	0	0	0	0	0,7
<i>Lactarius camphoratus</i>	Гифосфера	98,1	0	0	0	0,6	0	0	0,6	0	0	0	0	0	0	0,4
	Контроль	99,7	0	0,1	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactarius flexuosus</i>	Гифосфера	87,7	0	0	0	5,2	0	0	7,1	0	0	0	0	0	0	0
	Контроль	90	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	Гифосфера	60,7	0	0	4,9	0	0	0	16,4	0	0	0	0	0	0	18
	Контроль	94,7	0	0,2	0	0	0	0	5,2	0	0	0	0	0	0	0

Таблица 4. Численность сапротрофных бактерий на ГПД среде (млн. КОЕ/г.)

Вид базидиомицета	Почвенный локус		
	Микоризосфера	Гифосфера	Контроль
<i>Amanita citrina</i>	0,896±0,07	0,4±0,03	0,392±0,08
<i>Cortinarius betuletorum</i>	0,659±0,04	1,3±0,06	0,312±0,03
<i>Cortinarius flexipes</i>	0,417±0,01	0,24±0,05	0,187±0,01
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	1,163±0,11	0,77±0,04	0,254±0,02
<i>Laccaria laccata</i>	0,9998±0,08	0,66±0,07	0,26±0,06
<i>Lactarius aurantiacus</i>	0,509±0,04	0,88±0,06	0,133±0,03
<i>Lactarius camphoratus</i>	0,502±0,03	0,96±0,04	0,283±0,02
<i>Lactarius flexuosus</i>	0,411±0,01	0,38±0,03	0,126±0,01
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	0,627±0,02	1,6±0,08	0,335±0,04
<i>Tricholoma fulvum</i>	0,629±0,05	0,64±0,03	0,159±0,02

Таблица 5. Доля отдельных таксонов (в %) бактерий в составе сапротрофного бактериального комплекса микоризосферы базидиомицетов

Образец							
	<i>Bacillus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Cytophaga</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Mycococcus</i>
<i>Amanita citrina</i>	12	27,9	0	46,9	0	0,4	12,8
<i>Cortinarius betuletorum</i>	14,7	23,7	0,6	50,3	0	0,6	10,2
<i>Cortinarius flexipes</i>	32	11,2	0	51,5	0	0	5,3
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	8,3	39,1	2,5	40,3	0	0	10
<i>Laccaria laccata</i>	4,4	5,8	0	75,9	0	14	0
<i>Lactarius aurantiacus</i>	9,8	54,5	0	19,6	0,9	0	15,2
<i>Lactarius camphorates</i>	31,5	60,2	0	0	0	0	8,3
<i>Lactarius flexuosus</i>	1	3,7	2,6	92,7	0	0	0
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	17,3	23,6	0	59,1	0	0	0
<i>Tricholoma fulvum</i>	9	7,6	0	80,7	0	0	2,7

Таблица 6. Значения количественного модифицированного коэффициента Серенсена (Брея – Кертиса) для сапротрофных бактериальных комплексов (СБК) микоризосферы, гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы.

Вид базидиомицета	Сходство СБК микоризосферы и гифосферы	Сходство СБК микоризосферы и контрольной почвы	Сходство СБК гифосферы и контрольной почвы
<i>Amanita citrina</i>	31,8	13,6	70,3
<i>Cortinarius betuletorum</i>	15,7	17,2	88,0
<i>Cortinarius flexipes</i>	43,2	36,4	68,9
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	42,1	11,3	66,7
<i>Laccaria laccata</i>	4,3	5,7	61,1
<i>Lactarius aurantiacus</i>	9,8	10,8	59,3
<i>Lactarius camphoratus</i>	32,0	31,6	98,1
<i>Lactarius flexuosus</i>	7,3	1,0	87,7
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	35,3	17,3	65,8
<i>Tricholoma fulvum</i>	13,1	9,0	51,4

Таблица 7. Показатели общей численности бактерий в образцах плодовых тел базидиомицетов, млрд.клеток/г.

Вид базидиомицета	Общая численность бактерий
<i>Amanita citrina</i>	10,49±0,7
<i>Amanita crocea</i>	4,16±0,4
<i>Amanita muscaria</i>	196,7±9,4
<i>Amanita pantherina</i>	21,92±0,8
<i>Amanita phalloides</i>	23,63±1,1

Таблица 8. Показатели численности сапротрофных бактерий в образцах плодовых тел базидиомицетов, млн.КОЕ/г.

Вид базидиомицета	Численность сапротрофных бактерий
<i>Amanita citrina</i>	19,3±0,9
<i>Amanita crocea</i>	36,5±2,4
<i>Amanita muscaria</i>	184773,8±34,4
<i>Amanita pantherina</i>	72,5±2,3
<i>Amanita phalloides</i>	270,9±12,2

Таблица 9. Доля отдельных таксонов (в %) бактерий в составе сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов.

Образец		<i>Streptomyces</i>	<i>Cytophaga</i>	<i>Chromobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Plesiomonas</i>	<i>Mycococcus</i>
<i>Amanita citrina</i>	Плодовое тело	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
<i>Amanita crocea</i>	Плодовое тело	0	22,2	0	6,7	2,4	68,7	0	0	0	0
<i>Amanita phalloides</i>	Плодовое тело	0	0	1,6	51,3	0	0	15,9	31,2	0	0
<i>Amanita muscaria</i>	Плодовое тело	1,3	0	0	32,9	0	0	0	0	56,3	0
<i>Amanita pantherina</i>	Плодовое тело	0	0	0	43,2	0	0	2,9	53,7	0	0,1

Таблица 10. Значения количественного модифицированного коэффициента Серенсена (Брея – Кертиса) для сапротрофных бактериальных комплексов (СБК) плодовых тел, гифосферы базидиомицетов и контрольной почвы.

Вид базидиомицета	Сходство СБК гифосферы и плодового тела	Сходство СБК гифосферы и контрольной почвы	Сходство СБК плодового тела и контрольной почвы
<i>Amanita citrina</i>	34,9	54,8	58,8
<i>Amanita crocea</i>	6,7	17,6	6,7
<i>Amanita muscaria</i>	1,4	52,1	28,6
<i>Amanita pantherina</i>	26,0	40,4	26
<i>Amanita phalloides</i>	46,2	70,8	19,8

Таблица 11. Общая численность бактерий в образцах плодовых тел базидиомицетов, млрд. клеток в 1 г.

Вид базидиомицета	Этапы развития и разложения плодовых тел			
	1 (3 сутки)	2 (8 сутки)	3 (12 сутки)	4 (14 сутки)
<i>Armillaria mellea</i>	0,203±0,04	0,067±0,009	0,044±0,005	2,44±0,1
	1 (1 сутки)	2 (3 сутки)	3 (8 сутки)	4 (9 сутки)
<i>Coprinus comatus</i>	0,047±0,006	0,027±0,005	0,318±0,08	2,64±0,1

Таблица 12. Численность сапротрофных бактерий в образцах плодовых тел базидиомицетов, млн. КОЕ/1 г.

Вид базидиомицета	Этапы развития и разложения плодовых тел			
	1 (3 сутки)	2 (8 сутки)	3 (12 сутки)	4 (14 сутки)
<i>Armillaria mellea</i>	1,2±0,09	0,9±0,03	42,7±0,9	886,9±21,3
	1 (1 сутки)	2 (3 сутки)	3 (8 сутки)	4 (9 сутки)
<i>Coprinus comatus</i>	24,7±0,8	118,3±2,8	68,3±1,8	888,2±21,8

Таблица 13. Доля отдельных таксонов (в %) бактерий в составе сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел базидиомицетов на разных стадиях развития и разложения.

Вид базидиомицета	Стадия	<i>Streptomyces</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Plesiomonas</i>	<i>Мухоморoccus- Polyangium</i>
<i>Armillaria mellea</i>	1 (3 суток)	11	13,5	4,3	36,8	15,3	4,9	0	0	0	11,7	2,5
	2 (8 суток)	0	26,6	2,7	53,8	0	5,4	0	6	4,9	0	0,7
	3 (12 суток)	0	1,2	0	68,9	0	20	0	9,5	0,2	0	0,2
	4 (14 суток)	0	0	0	24,7	0	44,7	30,7	0	0	0	0
<i>Coprinus comatus</i>	1 (1 суток)	0	14,6	6,5	78,9	0	0	0	0	0	0	0
	2 (3 суток)	0	6,8	0	93,2	0	0	0	0	0	0	0
	3 (8 суток)	0	0	1	99	0	0	0	0	0	0	0
	4 (9 суток)	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0