

## МИКОРИЗНЫЕ СООБЩЕСТВА ГРИБОВ ВЕРХОВЫХ БОЛОТ (НА ПРИМЕРЕ СТАЦИОНАРА МУХРИНО ЮГУ)

**Белик А.А.**

*Югорский государственный университет,  
Ханты-Мансийск, Belik@ugranko.ru*

**Научный руководитель – Филиппова Н.В.**

*Югорский государственный университет,  
Ханты-Мансийск, filipova.courlee.nina@gmail.com*

Микориза – это мутуалистическая ассоциация между почвенными грибами и корнями растений. Партнерами в этой ассоциации являются представители царства грибов (базидиомицеты, аскомицеты и зигомицеты) и большинства сосудистых растений [1, 3]. В начале 1990-х гг. стали активно применять молекулярные методики в исследовании микориз, что позволило вывести изучение структуры сообществ микоризных грибов на новый уровень: изучать не только надземную, но и подземную составляющую сообществ, а также идентифицировать микобионт непосредственно из микоризного окончания [4, 6]. В настоящее время исследования в области микоризных ассоциаций представлены целым рядом направлений, исследующих проблему на уровнях от молекулярного и клеточного до биогеоценотического. При этом объектом исследований являются и каждый из симбионтов и их взаимодействие, а также роль этого взаимодействия в эволюции, экологии (в том числе и при антропогенном влиянии на места обитания) грибов и растений, рассматриваются физиологические, генетические и молекулярные аспекты симбиоза, и их прикладные аспекты в лесоводстве и сельском хозяйстве [7]. В настоящей работе для изучения микоризных сообществ грибов верховых сфагновых болот мы применяли прямое наблюдение плодовых тел (мониторинг плодоношения на площадках) и дополняли его методом выделения тотальной ДНК из корневых окончаний. Территория таежной зоны Западной Сибири является одной из наиболее сильно заторфованных на Земном шаре, при этом преобладают экосистемы верховых сфагновых болот. Целенаправленных исследований микоризных сообществ грибов этих экосистем на данной территории до наших исследований не проводилось [5].

Целью исследования является описание видового состава и структуры сообществ микоризных грибов болотных деревьев. Для ее достижения был предпринят ряд шагов: 1) изучение литературных данных о микоризных сообществах деревьев верховых болот, 2) планирование теоретической и практической части исследования, 3) описание

сообщества микоризных грибов наблюдением плодовых тел на площадках, 4) отбор проб корневых окончаний деревьев на верховых болотах, 5) разбор и анализ корневых окончаний по морфологическим признакам, 6) выделение тотальной ДНК из корневых окончаний в Молекулярной лаборатории Югорского государственного университета, 7) отправка образцов для NGS секвенирования на платформе Illumina, 8) анализ полученных данных метабаркодинга и сравнение с данными мониторинга грибов, обсуждение результатов предложений в прикладных направлениях.

В результате мониторинга плодоношения макромицетов на площадках, заложенных на верховом болоте, выявлен видовой состав микоризных партнеров деревьев (сосна и кедр). Всего в списке макромицетов насчитывается 95 таксонов, из них 50 видов образуют микоризные ассоциации с деревьями, в том числе: *Cortinarius* (30 видов), *Lactarius* (5 видов), *Russula* (3 вида), *Leccinum* (2 вида), *Amanita*, *Cantharellula*, *Clavaria*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Thelephora* (по одному виду). Определение таксонов по морфологическим признакам было подтверждено или переопределено с помощью баркодинга ITS региона [2].

Для выделения тотальной ДНК (метабаркодинг) было выбрано по 5-10 деревьев двух видов (сосна, кедр) возрастом около 50 лет. У основания каждого дерева с нескольких сторон от ствола отбирались корневые окончания, дважды в течение сезона (июнь и сентябрь), всего 40 образцов (Таблица).

Таблица. Дизайн отбора проб для метабаркодинга сообщества грибов микоризных окончаний

Ключевой участок	Ключевой участок Шапша		Ключевой участок Мухрино
Вид дерева/Месяц	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>P. sibirica</i>	<i>P. sylvestris</i>
Июнь	По 2 образца проб корешков с 10 деревьев	По 2 образца проб корешков с 5 деревьев	По 2 образца проб корешков с 10 деревьев
Сентябрь	По 2 образца проб корешков с 10 деревьев	По 2 образца проб корешков с 5 деревьев	
ИТОГО 40 образцов			

Отобранные образцы корешков были законсервированы в морозильной камере. Непосредственно перед выделением пробы были разморожены, и отдельные короткие корешки были отобраны в микро-пробирки по 2-3 пробирки на пробу. Выделение тотальной ДНК проводили согласно протоколу реакционной смеси для выделения тотальной ДНК из почвы «Sileks». Выделенные образцы тотальной ДНК

консервировали в морозильной камере для дальнейшей отправки для NGS секвенирования в стороннюю компанию. Предварительно была проверена концентрация полученной ДНК через постановку ПЦР с грибными праймерами (ITS3\_KY02, ITS4\_KY02), оценка результатов на электрофореze и флуориметре Qubit 4,0. В настоящее время мы ожидаем результаты NGS секвенирования, данные будут обработаны и проанализированы с использованием протоколов анализа данных NGS. Затем будет проведено сравнение результатов, полученных с помощью двух подходов: прямого наблюдения плодовых тел и выделения тотальной ДНК.

Таким образом, в результате исследования нами было описано сообщество грибов – микоризных партнеров болотных деревьев с помощью прямого наблюдения плодовых тел, и апробированы методики отбора корневых окончаний болотных деревьев и выделения тотальной ДНК для описания сообщества с помощью метабаркодинга.

### Список литературы

1. Brundrett M.C., Abbott L.K. 1991. Roots of jarrah forest plants. Mycorrhizal associations of shrubs and herbaceous plants. *Australian Journal of Botany*. V. 39: 445-457.
2. Filippova N.V., Zvyagina E.A., Bolshakov S.V., Rudykina E.A., Dobrynina A.S., Filippov I.V. The diversity of larger fungi in peatlands: nine years of plot-based monitoring and barcoding in raised bog "Mukhrino", West Siberia. *Biodiversity Data Journal* [в печати].
3. Lyr H., Hoffmann G. 1967. Growth rates and growth periodicity of tree roots. *International Review of Forestry Research*. V. 2: 181-236.
4. John T.V., Coleman D.C. 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. *Canadian Journal of Botany*. V. 61: 1005-1014.
5. Thormann M. N. Diversity and function of fungi in peatlands: A carbon cycling perspective. *Canadian journal of soil science*. 2007.
6. Смит С. Э., Рид Д. Дж. Микоризный симбиоз /перевод Воронина Е.Ю. -. Москва, 2012