

Роль грибов и бактерий в минерализации соединений азота в почве южно-таежного березняка Европейской России

С. М. РАЗГУЛИН¹, Л. В. ВОРОНИН²

¹Институт лесоведения РАН
143030, Московская обл., Одинцовский район, с. Успенское, ул. Советская, 21

²Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского
150000, Ярославль, ул. Республикаанская, 108/1
E-mail: root@ilan.ras.ru

Статья поступила 20.02.2023

После доработки 06.04.2023

Принята к печати 02.05.2023

АННОТАЦИЯ

Определяли вклад грибов и бактерий в процесс нетто-аммонификации в дерново-подзолистой почве кислично-черничного березняка Ярославской области с использованием ингибиторного анализа. В микробиоте сапротрофных грибов преобладали представители родов *Penicillium* Link (70–99 %) и *Trichoderma* Pers. (6–20 %). Сезонные изменения общей численности грибов и содержания C_{opr} и N_{opr} в почве коррелировали только в элювиальном горизонте, $r = -0,8$ и $r = -0,7$. В горизонтах A₀ и A общая численность грибов отрицательно коррелировала с накоплением азота, $r = -0,85$ и $r = -0,89$. Установлено, что для подстилки характерно равнозначное участие грибов и бактерий в этом процессе. В гумусовом горизонте отмечено небольшое превышение участия грибов над бактериями. В элювиальной части профиля вклад бактерий незначительно выше вклада грибов. Максимальная температура воздуха способна регулировать сезонную динамику численности сапротрофных грибов в почве.

Ключевые слова: микробиота сапротрофных грибов, бактерии, нетто-аммонификация, ингибиторный анализ.

ВВЕДЕНИЕ

Функционирование биогеохимических циклов в лесах умеренной зоны происходит в сложноустроенных экосистемах с почвенным профилем, пронизанным корневыми окончаниями с ризосферными зонами, микоризными комплексами, сапротрофными грибами и бактериями. Циклическое поступление корневых экссудатов, составляющее до 40 % углерода нетто-фотосинтеза деревьев, приводит к увеличению бактериальной массы ризосферных

зон и минеральной почвы. Гифы эктомикоризных грибов также выделяют низкомолекулярные органические соединения, поддерживающие бактериальные сообщества [Llado et al., 2017].

Грибы и бактерии являются основными группами микроорганизмов-деструкторов органического вещества почвы, обеспечивающих функционирование биогеохимических циклов. В лесных почвах сапротрофные грибы выделяют широкий спектр внеклеточных

ферментов и являются основными деструкторами лигнина, а также целлюлозы и гемицеллюлозы [de Boer et al., 2005; Strickland, Rousk, 2010; Morrison et al., 2016].

В бореальных лесах сапротрофная микробиота подстилки продуцирует широкий набор ферментов (фосфатазу, сульфатазу, аминопептидазу, ацетил-глюкозаминидазу, глюкозидазу, целлобиогидралазу, ксилозидазу, пероксидазу и фенолоксидазу), разлагающих органическое вещество почвы с уровнем активности, сравнимым с активностью эктомикориз [Phillips et al., 2014], локализованных в более глубоких горизонтах почвы [Lindahl, Tunlid, 2015; Baskaran et al., 2017]. Высокая эффективность в разложении гемицеллюлозы, целлюлозы и хитина отмечена у дрожжей, которые также активно используют продукты разложения других микроорганизмов [Mašínová et al., 2018].

Почвенные бактерии способствуют расщеплению фенольных соединений, включая лигнин, хотя их эффективность намного ниже, чем у грибов. Недавно обнаружено, что гены, кодирующие ферменты целлюлазы, присутствуют в 24 % всех секвенированных бактериальных геномов лесной подстилки. Кроме того, геномы некоторых почвенных бактерий лесов кодируют белки, участвующие в разложении биомассы мертвых растений, что стимулирует эффективность ее гидролиза. Бактерии, производящие хитинолитические ферменты, более эффективно перерабатывают полисахариды и меланин отмирающего мицелия грибов, чем сами грибы. Роль бактерий, ассоциированных с микоризами, изменяется от помощников микориз до мицофагов. Вероятно, бактерии играют более важную роль в трансформации органической массы, чем предполагалось ранее, и вносят значительный вклад в процессы разложения органического вещества в подстилке и почве [Llado et al., 2017].

Определение численности и биомассы грибов и бактерий в почве представляет сложную, но окончательно не решенную методическую задачу [Strickland, Rousk, 2010]. Исследования, выполненные различными методами, показали устойчивое доминирование грибов в верхних горизонтах почв [Compton et al., 2004; Ананьева и др., 2010; Добровольская и др., 2015; Никитина и др., 2019]. В бореаль-

ных и умеренных лесах грибная биомасса (горизонт 0–30 см), измеренная по содержанию фосфолипидов жирных кислот, составляла 1234 и 226 мг С·кг⁻¹, а бактериальная – 258 и 53 мг С·кг⁻¹ соответственно, с соотношением грибы : бактерии, равным 4–5 [He et al., 2020]. Использование метода каскадной фильтрации выявило близкое соотношение этих групп микроорганизмов в верхних горизонтах почвы, однако в нижних частях профиля со значительным превышением доминировали бактерии [Полянская и др., 2020].

Известны работы по определению раздельного вклада грибов и бактерий в процессы дыхания и образования оксидов азота почвой [West, 1986; Castaldi et al., 1998; Bailey et al., 2003; Ананьева и др., 2010, 2015; Blagodatskaya et al., 2010; Богородская, Шишкин, 2020]. Аналогичных исследований нетто-минерализации азота в лесных почвах (ключевого процесса в азотном цикле бореальных лесов [Sponseller et al., 2016; Разгулин, 2022б]) значительно меньше [Landi et al., 1993; Boyle et al., 2008].

В настоящей работе поставлена задача определения роли грибов (микромицетов) и бактерий в процессе минерализации азота, и также исследования взаимосвязи численности сапротрофных грибов с сезонной динамикой нетто-минерализации соединений азота в почве березняка.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в среднепродуктивном кислично-черничном березняке с составом древостоя 7БЗОс, 65 лет, II класса бонитета (Рыбинский р-н Ярославской обл.) в 2020 г. Преобладает береза поникшая (*Betula pendula* Roth) и осина обыкновенная (*Populus tremula* L.). В подросте ель европейская (*Picea abies* L.) в количестве 500 экз./га. В подлеске преобладают рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) и крушина ломкая (*Frangula alnus* Mill). В напочвенном покрове присутствуют костяника каменистая (*Rubus saxatilis* L.), черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.), майник двулистный (*Maianthemum bifolium* L.), ожика волосистая (*Lusula pilosa* L.), голокучник обыкновенный (*Gymnocarpium dryopteris* L.). Почва дерново-среднеподзолистая, легкосуглинистая. Хорошо выражена корненасы-

щенная подстилка мощностью 2–3 см. Гумусовый горизонт тонкий, мощность 1 см, черный, мелкозернистый. Элювиальная часть профиля светло-серого цвета с палевым оттенком, корней мало. С глубины 30–50 см начинается илювиальная часть профиля, неоднородная по окраске, механическому составу, структуре. Подстилается тяжелой валунной мореной из красно-бурого среднего и тяжелого суглинка.

Для измерения нетто-минерализации соединений азота в почве березняка раз в месяц с мая по октябрь отбирали образцы подстилки (A_0 , 0–2 см), гумусового (A_1 , 2–3 см) и элювиального (A_2 , 3–13 см) горизонтов. Из проб удаляли крупные (более 1 мм в диаметре) корни. На ситах с диаметром отверстий 5 и 3 мм сепарировали подстилку, а пробы из гумусового и элювиального горизонтов пропускали через ячею 2 мм. Все пробы помещались в открытые полиэтиленовые пакеты и хранили одни сутки при комнатной температуре.

Влажность определяли термовесовым методом, высушивая в течение суток в термостате пробы подстилки при 85 °C и почву из минеральных горизонтов при 105 °C.

Навески подстилки и пробы из горизонтов A_1 (4 г сухого веса) и A_2 (6 г сухого веса) помещали в алюминиевые блюски и экспонировали 25–29 суток в лаборатории при комнатной температуре.

Для определения вклада грибов и бактерий в процесс минерализации азота использовали селективные ингибиторы из группы аминогликозидных антибиотиков, подавляющих синтез белка. Циклогексимид подавляет синтез белков у эукариотных организмов с 80S-рибосомами, включая микроскопические грибы с 80S- и 70S-рибосомами. Стрептомицин блокирует синтез белка у прокариот с 70S-рибосомами [Landi et al., 1993].

При определении концентрации антибиотиков учитывали результаты исследования [Blagodatskaya et al., 2010], в которых наибольшее ингибирование субстрат-индукционного дыхания лесной подстилки ($C_{\text{опр}}$ 43 %) обеспечивалось 50 мг циклогексимида и стрептомицина на 1 г пробы. В настоящей работе в подстилку ($C_{\text{опр}}$ 27 %) вносили циклогексимид (30 мг/г) и стрептомицин (50 мг/г). В гумусовый и элювиальный горизонты с меньшим содержанием органического углерода вносили 15 и 10 мг/г циклогексимида и 25 и 20 мг/г

стрептомицина соответственно. Использовали 2 и 5 % водные растворы циклогексимида и стрептомицина. Близкие дозы внесения антибиотиков (20–50 мг/г) указывались и в других работах [Ананьева и др., 2015; Богородская, Шишкин, 2020]. В верхних горизонтах почвы применяют и более низкие концентрации указанных препаратов – 2–3 мг/г [Landi et al., 1993; Boyle et al., 2008].

Экспериментальные варианты включали: контроль (с добавлением бидистиллированной воды), циклогексимид, стрептомицин. Все варианты выполнялись в 4-кратной повторности для каждого горизонта. Влажность в процессе инкубации контролировали весовым методом, при необходимости добавляя воду каждые 3–4 суток.

Содержание обменного аммония в пробах подстилки и минеральной почве определяли в начале и окончании экспозиции. Пробы почвы экстрагировались 100 мл 2%-м раствором хлорида калия в течение суток, взбалтывались на ротаторе в течение 0,5 ч, центрифугировались и фильтровались. Аммоний в фильтрате определяли методом изотермической дистилляции аммиака в щелочной среде [Разгулин, 2009]. Нетто-аммонификация рассчитывалась как разность содержания аммония между окончанием и началом экспозиции. Так как вклад нитрификации в нетто-минерализованный азот в этом типе леса не превышал 1,6 %, содержание нитратов не определяли [Разгулин, 2022б].

В течение вегетации 2 раза за каждый срок измеряли эмиссию CO_2 в контрольном варианте каждого горизонта, помещая четыре блюска с почвой в баллон емкостью 1 л из пластика с герметичной резиновой пробкой. Пробы воздуха отбирали шприцем из баллона через 1 ч в вакуумированные флаконы в трехкратной повторности. Содержание CO_2 измеряли на газоанализаторе с поглотителями Реберга, оттитровывая избыток гидрата окиси бария соляной кислотой. В качестве газа-носителя использовали аргон [Разгулин, 2022б].

В пробах почвы определяли содержание $C_{\text{опр}}$ методом потери при прокаливании и $N_{\text{опр}}$ – по Кельдалю.

Численность почвенных грибов определяли методом почвенных разведений Ваксмана и глубинного посева почвенной суспензии на агаризованную питательную среду Чапека

Таблица 1

Сезонная динамика максимальной температуры воздуха, влажности почвы (W), химического состава почвы, эмиссии CO₂ и численности мицелиальных грибов в КОЕ микромицетов в почве березняка

Параметр	26.V	1.VII	3.VIII	4.IX	5.X
Температура воздуха, T, °C	20,6	24,1	21,4	21,6	16,8
A ₀ C _{опт} , %, N _{опт} , %	27,0, 0,88	27,0, 1,25	24,0, 1,24	34,0, 0,92	25,0, 1,1
C-CO ₂ , мг С/100 г/ч,	5,7 ± 0,9,	6,1 ± 1,0,	10,6 ± 1,5,	6,7 ± 0,7,	6,0 ± 0,8,
NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	11,0 ± 0,5	10,5 ± 0,4	9,8 ± 0,7	3,4 ± 0,3	5,1 ± 0,2
10 ³ КОЕ/г, W, %	45,6 ± 4,3, 68	38,6 ± 1,7, 56	37,0 ± 0,6, 69	48,0 ± 0,5, 66	62,0 ± 3,0, 63
A ₁ C _{опт} , %, N _{опт} , %	7,0, 0,08	7,0, 0,1	15,0, 0,34	8,3, 0,33	8,0, 0,23
C-CO ₂ , мг С/100 г/ч,	3,2 ± 0,2,	3,5 ± 0,3,	7,7 ± 0,8,	6,1 ± 0,7,	6,7 ± 0,8,
NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	3,6 ± 0,2	5,0 ± 0,4	4,0 ± 0,2	4,7 ± 0,3	4,6 ± 0,4
10 ³ КОЕ/г, W, %	44,3 ± 1,4, 50	47,6 ± 20,0, 44	33,3 ± 4,6, 62	43,0 ± 2,5, 49	26,3 ± 0,6, 46
A ₂ C _{опт} , %, N _{опт} , %	2,6, 0,05	3,00, 0,06	2,1, 0,05	2,1, 0,03	2,7, 0,016
C-CO ₂ , мг С/100 г/ч,	1,3 ± 0,5,	3,5 ± 0,5,	3,4 ± 0,5,	6,1 ± 1,	3,2 ± 0,1,
NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	0,5 ± 0,03	2,0 ± 0,12	0,7 ± 0,04	1,1 ± 0,06	0,7 ± 0,05
10 ³ КОЕ/г, W, %	4,2 ± 0,1, 31	3,3 ± 0,5, 27	4,5 ± 1,2, 28	4,8 ± 1,3, 31	4,5 ± 0,8, 28

[Методы экспериментальной микологии, 1982] с добавлением антибиотиков, в трех повторностях. Засеянные водно-почвенной суспензией чашки Петри периодически просматривали, начиная с третьих суток. Окончательный учет проводили через 10 суток. При этом учитывали общее число колоний, условно допуская, что каждая колония образовалась из диаспоры (одной споры или небольшого фрагмента гифы). Рассчитывали численность диаспор, или колониеобразующих единиц (КОЕ), на 1 г воздушно-сухой почвы. Идентификацию грибов проводили до уровня рода [Литвинов, 1967].

Все результаты выражены на вес сухой почвы и приведены в виде среднего и ошибки среднего (табл. 1 и 3). Температура воздуха приведена по данным Гидрометобсерватории им. М. А. Рыкачева г. Рыбинска. Статистические расчеты выполнены с использованием программы “Статистика-6”.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая численность грибов (КОЕ) в почве березняка выражается близкими величинами в подстилке и гумусовом горизонте и на порядок меньше в элювиальной части профиля (см. табл. 1).

Разнообразие почвенных сапротрофов очень бедное. Во все даты отбора проб доминантами были анаморфные грибы родов *Penicillium*

nicillum Link и *Trichoderma* Pers, составляющие соответственно до 99 и 20 % всей мицелии почвы (табл. 2), что характерно для дерново-подзолистых почв и отмечалось ранее для района исследования [Еникеева, 1977]. Грибы рода *Penicillium* являются основными сапротрофами-гидролитиками в подстилке и гумусовом горизонте и взаимодействуют с минеральной частью почвы в более глубоких горизонтах [Мирчинк, 1988]. Значительно меньше доля рода *Trichoderma*, быстрорастущих гидролитиков с богатым диапазоном ферментов, подстилочных сапротрофов [Chigineva et al., 2011], населяющих и гумусовый горизонт [Petrović et al., 1993].

В подстилке в июле и августе в небольшом количестве присутствуют представители рода *Phialophora* Medlar, обладающие большим набором разнообразных ферментов [Мирчинк, 1988], и грибы рода *Taeniolella* S. Hughes (июль, октябрь). В августе появляются дрожжи, и в сентябре их доля возрастает. В октябре вклад рода *Penicillium* сокращается до 70 %, а доля грибов из рода *Phialophora* возрастает до 28 %. В гумусовом горизонте в мае присутствует род *Gilmania* G. I. Barron, в июле и августе появляются дрожжи, а также грибы из родов *Taeniolella* и *Bispora* Corda. В сентябре и октябре до 10–24 % возрастает вклад дрожжей, а доля пеницилловой группы в октябре уменьшается до 76 %. В горизон-

Т а б л и ц а 2

Сезонная динамика родового состава грибов в почве березняка (% от общей численности грибов)

Горизонт	26.V	1.VII	3.VIII	4.IX	5.X
A ₀	Penicillium 80 Trichoderma 20	Penicillium 77 Trichoderma 18 Phialophora 3 Taenionella 2	Penicillium 89 Trichoderma 8 Phialophora 1 Дрожжи 2	Penicillium 86 Trichoderma 7 Дрожжи 7	Penicillium 70 Phialophora 28 Taenionella 2
A ₁	Penicillium 88 Trichoderma 1 Gilmaniella 1 Дрожжи 10	Penicillium 95 Phialophora 2 Taenionella 1 Дрожжи 2	Penicillium 80 Дрожжи 12 Trichoderma 6 Bispora 2	Penicillium 89 Дрожжи 10 Trichoderma 1	Penicillium 76 Дрожжи 24
A ₂	Penicillium 97 Неидентифи-цированный вид 3	Penicillium 97 Septonema 3	Penicillium 93 Trichoderma 5 Bispora 2	Penicillium 80 Taenionella 10 Trichoderma 9 Phialophora 1	Penicillium 99 Phialophora 1

те A₂ отмечается самый высокий вклад грибов из рода *Penicillium* – 80–99 %. Встречаются представители родов *Septonema* Corda, *Bispora*, *Phialophora*.

В лесах Центральной Европы видовое разнообразие сапротрофных грибов в значительной степени определяется характеристиками насаждения (породным составом, числом стволов на единицу площади и пр.). Также прослеживается положительная связь с pH почвы и содержанием фосфора. Предполагается, что в данном регионе лимитирование продуктивности лесных массивов по азоту может смениться дефицитом по фосфору [Odriozola et al., 2021].

Количество минерализованного азота в почвенном профиле закономерно уменьшается сверху вниз (табл. 3).

В подстилке во всех вариантах эксперимента максимум накопления аммония был отмечен в августе. Сезонная динамика процесса коррелировала в вариантах контроля и циклогексимида, $r = 0,69$ при $p = 0,19$. Грибы преобладали над бактериями по вкладу в минерализованный азот (отношение вариантов стрептомицин/циклогексимид) в последние три срока измерений.

В гумусовом горизонте сезонные изменения накопления аммония хорошо коррелировали во всех вариантах опыта, $r = 0,90–0,93$ при $p = 0,02–0,03$. Наибольшее накопление было отмечено в июле и августе. Вклад грибов был выше вклада бактерий во все сроки, кроме сентября. В горизонте A₂ в контроле максимум накопления отмечен в июне. Сезонные изменения процесса коррелировали в вариантах

Т а б л и ц а 3

Сезонная динамика накопления аммония в горизонтах почвы березняка, мг N/100 г

Горизонт	29.V – 23.VI	2.VII – 27.VII	5.VIII – 30.VIII	7.IX – 29.IX	6.X – 27.X	Всего
A ₀ , контроль	6,0 ± 0,7	14,2 ± 1,2	16,2 ± 0,8	13,8 ± 0,8	1,9 ± 0,3	52 ± 2
A ₁ , контроль	0,3 ± 0,2	5,1 ± 0,4	4,7 ± 0,1	2,4 ± 0,3	0,8 ± 0,3	13 ± 0,6
A ₂ , контроль	0,4 ± 0,1	2,9 ± 0,3	1,2 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	5 ± 0,4
A ₀ , циклогексимид	38,0 ± 1,7	32,0 ± 1,3	39,4 ± 2,0	33,1 ± 3,0	11,9 ± 0,7	154 ± 3,9
A ₀ , стрептомицин	19,6 ± 1,2	29,2 ± 1,0	50,0 ± 2,0	44,8 ± 2,0	22,4 ± 1,2	166 ± 3
A ₁ , циклогексимид	6,2 ± 0,4	15,7 ± 1,0	15,6 ± 2,0	11,4 ± 1,6	2,2 ± 1,7	51 ± 3
A ₁ , стрептомицин	9,2 ± 1,0	19,5 ± 1,0	23,8 ± 1,5	10 ± 1	5,5 ± 0,4	68 ± 2
A ₂ , циклогексимид	4,4 ± 0,6	6,7 ± 1,0	1,0 ± 0,3	2,2 ± 0,2	4,1 ± 0,2	18 ± 1,2
A ₂ , стрептомицин	2,5 ± 0,2	6,6 ± 0,3	2,6 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,8 ± 0,1	15 ± 0,4

с ингибиторами, $r = 0,74$ при $p = 0,15$. В накоплении азота грибы доминировали над бактериями только в августе.

В целом, за период исследований в подстилке отношение суммы минерализованного азота в вариантах с антибиотиками было близко к 1, $154 \pm 3,9$ и 166 ± 3 мг N/100 г (см. табл. 3), что указывает на близкое участие грибов и бактерий в процессе минерализации азота. В гумусовом горизонте отношение минерализованного азота в варианте со стрептомицином (68 ± 2 мг N/100г) к варианту с циклогексимидом (51 ± 3 мг N/100г) составило 1,3, что свидетельствует о небольшом превалировании грибов над бактериями. В горизонте A_2 вклад бактерий в процесс минерализации незначительно превышал вклад грибов, соответственно $18 \pm 1,2$ и $15 \pm 0,4$ мг N/100 г.

ОБСУЖДЕНИЕ

В подстилке общая численность грибов в мае снижается до минимума в июле и августе (наименьший запас) и увеличивается в сентябре и октябре с поступлением листового и травяного опада. Это обстоятельство и сохранение довольно высокой температуры почвы обусловили рост численности гидролитиков – подстилочных сапротрофов. В гумусовом горизонте значения КОЕ были высоки в июле, возможно, за счет перемещения сапротрофов из подстилки, способных использовать гумус, снижались в августе, вновь возрастили в сентябре и уменьшались в октябре, вероятно, из-за недостаточного поступления органической массы из подстилки. В горизонте A_2 в течение вегетации численность КОЕ выражается близкими величинами с минимумом в июле (см. табл. 1). Не отмечено синхронности в сезонных изменениях КОЕ между горизонтами. Однако сезонные изменения общей численности грибов рода *Penicillium* в горизонтах A_1 и A_2 коррелировали между собой, $r = -0,91$ при $p = 0,03$.

Сезонная динамика численности грибов в лесных почвах изучена крайне недостаточно и представлена единичными работами с малым числом измерений за период исследования [Хабибуллина, Кузнецова, 2014].

Вероятно, солнечная активность в значительной степени определяет температуры почвы и воздуха. Сезонная динамика общей

численности грибов в почве хорошо регулировалась максимальной температурой воздуха. Коэффициент корреляции между этими параметрами снижался с глубиной почвенного профиля, составляя в горизонтах A_0 , A_1 и A_2 $-0,88$, $0,83$ и $-0,60$ при $p = 0,05$, $0,08$ и $0,29$ соответственно. Отрицательная корреляция в подстилке была обусловлена увеличением значений КОЕ в октябре при минимальной температуре. Численность грибов рода *Penicillium* в этих горизонтах также коррелировала с температурой воздуха $r = -0,80$, $0,85$ и $-0,60$ при $p = 0,1$, $0,07$ и $0,28$. В подстилке высокая численность грибов рода *Trichoderma* в первые два срока наблюдений могла снизить присутствие грибов пеницилловой группы (см. табл. 2) и обеспечить отрицательный знак в данной зависимости. В элювиальном горизонте минимальные значения КОЕ наблюдались при максимальной температуре.

Коэффициенты корреляции между значениями КОЕ и влажностью почвы составляли в подстилке, гумусовом и элювиальном горизонтах 0 , $-0,29$ и $0,53$, формально возрастили с глубиной профиля, но были недостоверны в горизонтах A_1 и A_2 .

Анализ сезонных изменений общей численности грибов осложнен ошибками значений КОЕ в горизонтах почвенного профиля и носит приближенный характер.

В подстилке и гумусовом горизонте не отмечено связи между сезонным изменением $C_{\text{орг}}$ и $N_{\text{орг}}$ и динамикой общей численности грибов. В элювиальной части профиля получена отрицательная корреляция между этими параметрами с $r = -0,8$ и $-0,7$ при $p = 0,09$ и $0,17$ соответственно. Содержание аммония и КОЕ грибов отрицательно коррелировали между собой в горизонтах A_0 и A_2 с $r = -0,66$ и $-0,72$ при $p = 0,27$ и $0,17$ соответственно. Отрицательная корреляция может указывать на интенсивную ассимиляцию органических соединений и аммония грибами [Беккер, 1988]. В подстилке в зависимости “КОЕ пенициллов – содержание аммония” значения r возрастают до $-0,83$ при $p = 0,08$, что отражает высокую долю этой группы в общей численности грибов.

В лесных почвах кроме микромицетов существует мицелий базидиальных грибов. Он локализован преимущественно в подстилке и гумусовых горизонтах.

В березняках Карелии биомасса базидиального мицелия в горизонтах A₀, A₁ и A₂ составляет 159 кг/га [Предтеченская, 1998]. Это соизмеримо с биомассой эктомикоризных грибов в почвах boreальных лесов (600 кг/га) и вносит заметный вклад в общую биомассу грибов в лесных почвах boreальной зоны, равную 1200 кг/га [Разгулин, 2022a]. Возможно, значительная биомасса мицелия базидиальных грибов объясняет отсутствие зависимости между сезонным изменением C_{опр} и N_{опр} и динамикой общей численности грибов в верхних горизонтах почвы березняка и ее присутствие в элювиальном горизонте, где базидиального мицелия в 2 раза меньше. Роль базидиальных грибов в минерализации азота представляется не очень большой, так как они участвуют в основном в минерализации лигнина [Мирчинк, 1988].

Выделяя внеклеточные ферменты, микроорганизмы обеспечивают распад сложных полифенол-белковых комплексов органического вещества почвы на N-содержащие моноядра, такие как нуклеиновые кислоты, аминокислоты или аминосахара. Эти небольшие органические молекулы N могут быть поглощены и непосредственно включены в биомассу микроорганизмов или дезаминированы под действием внутриклеточных ферментов с образованием NH₄⁺. Полученный NH₄⁺ затем может быть включен в биосинтез микроорганизмов или высвобождается из клетки, что приводит к аммонификации. Обладая мощными экстрафеллюлярными ферментами с протеиназной и протеолитической активностью, в этом процессе участвуют и грибы [Мирчинк, 1988], включая доминирующих в лесных почвах представителей родов *Penicillium* и *Trichoderma* [Павлюкова и др., 1998].

В контрольном варианте эксперимента в горизонтах A₀ и A₂, где активность грибов и бактерий была близка, общая численность грибов и накопление азота связаны отрицательной связью, $r = -0,85 \dots -0,89$ при $p = 0,04$. Возможно, это обстоятельство подчеркивает дефицит азота в этих горизонтах и вероятную ассимиляцию образованного аммония микробиотой в условиях конкуренции за азот со стороны бактерий. Содержание аммония в почве также отрицательно коррелировало с КОЕ грибов, как было показано выше.

Зависимость сезонной динамики эмиссии диоксида углерода и аммонификации обозначена в подстилке с $r = 0,54$ при $p = 0,24$, что указывает на взаимосвязь циклов углерода и азота в этом горизонте почвы.

Среднесезонные значения нетто-аммонификации в этом типе леса, измеренные в природе, составили в подстилке, гумусовом горизонте и элювиальной части профиля соответственно $0,63 \pm 0,06$, $0,07 \pm 0,02$ и $0,019 \pm 0,008$ мг N/100 г/сут [Разгулин, 2022b], что соизмеримо с приведенными ниже данными лабораторного эксперимента, составляющими $0,43 \pm 0,11$, $0,12 \pm 0,03$, $0,04 \pm 0,02$ мг N/100 г/сут.

Во всех вариантах эксперимента внесение ингибиторов до 30 раз увеличивало аммонификацию по сравнению с контролем, что отмечалось и ранее [Boyle et al., 2008; Strickland, Rousk, 2010]. Возможно, это связано с устранением конкурентной группы микроорганизмов и возникшим преимуществом в ресурсах. Наиболее реальным считают, что оставшиеся в живых микроорганизмы утилизировали низкомолекулярные органические соединения, высвобождаемые из клеток, убитых антибиотиками [Landi et al., 1993]. Полагают, что даже после добавления антибиотиков ранее существовавшие внеклеточные и внутриклеточные ферменты оставались активными даже при остановке биосинтеза микробного белка. Аммоний поступал в почву, и измерение показывало усиление аммонификации [Boyle et al., 2008].

В условиях 10-дневной экспозиции лесной почвы (Италия) получено незначительное преувеличение вклада бактерий над грибами в процесс аммонификации [Landi et al., 1993].

Исследования двух лесов дугласии (США, штат Орегон) с различным плодородием почв показали, что относительная биомасса грибов снижается с увеличением плодородия почвы и доступности азота, а вклад бактерий возрастает. Однако селективное ингибирование нетто-аммонификации подстилки на участке с плодородной почвой в один год исследования показало преобладание бактерий, а на второй год – грибов. На участке с низким плодородием минерализация азота в первый год исследования была близка к нулю, а на второй год был получен близкий вклад групп микроорганизмов в этот процесс. Исследования

были выполнены в мае, один раз в год [Boyle et al., 2008].

Используя протеомный (белковый) анализ углеводно-активных ферментов, полагают, что в цикле С и N в почве хвойного леса (Германия) участвуют преимущественно бактерии и в меньшей степени грибы [Starke et al., 2021]. Таким образом, результаты цитированных исследований не дают однозначного ответа на вопрос о различном вкладе грибов и бактерий в процессы минерализации азота почвы.

К ограничениям ингибиторного анализа относят недостаточную селективность (не исключают действие циклогексимида на бактерии). Ингибиторы способны образовывать прочные комплексы с органическим веществом почвы, что снижает их эффективность. Длительные периоды пребывания биоцида в почве приводят к изменению микробного сообщества и позволяют развиваться побочным эффектам [Landi et al., 1993].

С другой стороны, процессы разложения органического вещества почвы определяются не только взаимодействием грибов и бактерий, но и всей почвенной биотой, включая и беспозвоночных животных. Полагают, что малочисленная почвенная фауна может усиливать роль грибов, а многочисленная – бактерий [Strickland, Rousk, 2010]. В настоящем исследовании роль почвенной фауны не учитывалась.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Максимальная температура воздуха способна регулировать сезонную динамику численности сапротрофных грибов в почве березняка.

Зависимости между сезонными изменениями содержания в почве C_{opr} , N_{opr} и общей численностью грибов носили отрицательный знак. В почвенном профиле содержание аммония отрицательно коррелировало с общей численностью гифальных грибов.

Ингибиторный анализ показал, что в подстилке наблюдается равнозначное участие грибов и бактерий в процессе минерализации азота. В гумусовом горизонте отмечено небольшое превышение роли грибов над бактериями. В элювиальной части профиля вклад бактерий немного больше вклада грибов.

Ингибиторы увеличивают активность аммонификации во всех горизонтах почвы березняка по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

- Ананьева Н. Д., Иващенко К. В., Стольникова Е. В., Степанов А. Л., Кудеяров В. Н. Особенности определения нетто-продуцирования N_2O почвами // Почвоведение. 2015. № 6. С. 702–714.
- Ананьева Н. Д., Стольникова Е. В., Сусыян Е. А., Ходжаева А. К. Грибная и бактериальная микробная биомасса (селективное ингибирование) и продуцирование CO_2 и N_2O дерново-подзолистыми почвами постагренигенных биогеоценозов // Почвоведение. 2010. № 11. С. 1387–1393.
- Беккер З. Э. Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. 230 с.
- Богородская А. В., Шишкин А. С. Динамика микробной биомассы, ее структура и функциональная активность в почвах при лесовозобновлении на вырубках пихтарников Енисейского кряжа // Почвоведение. 2020. № 1. С. 119–130.
- Добропольская Т. Г., Звягинцев Д. Г., Чернов И. Ю., Головченко А. В., Зенова Г. М., Лысак Л. В., Манучарова Н. А., Марфенина О. Е., Полянская Л. М., Степанов А. Л., Умаров М. М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096.
- Еникеева М. Г. Влияние мелкой мелиорации на микрофлору почв в подзоне южной тайги // Лесоводственные исследования в подзоне южной тайги. М.: Наука, 1977. 146 с.
- Литвинов М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1967. 303 с.
- Методы экспериментальной микиологии: справочник. Киев: Наук. думка, 1982. 550 с.
- Мирчинк Т. Г. Почвенная микиология. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. 219 с.
- Никитина Д. А., Чернова Т. И., Железова А. Д., Тхакхакова А. К., Никитина С. А., Семенова М. В., Ксенонфонтова Н. А., Кутовая О. В. Сезонная динамика биомассы микроорганизмов в дерново-подзолистой почве // Почвоведение. 2019. № 11. С. 1356–1364.
- Павлюкова Е. Б., Белозерский М. А., Дунаевский Я. Е. Внеклеточные протеолитические ферменты мицелиальных грибов: обзор // Биохимия. 1998. Т. 63. С. 1059–1089.
- Полянская Л. М., Юмаков Д. Д., Тюгай З. Н., Степанов А. Л. Соотношение грибов бактерий в темногумусовой лесной почве // Почвоведение. 2020. № 9. С. 1094–1099.
- Предтеченская О. О. Пространственное размещение и биомасса мицелия макромицетов в почвах сосновых и березовых лесов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. (03.00.24). М.: Изд-во Моск. ун-та, 1998. 22 с.
- Разгулин С. М. Полевой метод измерения минерализации азота в лесных почвах // Почвоведение. 2009. № 11. С. 1341–1344.
- Разгулин С. М. Микоризные комплексы и их роль в экологии бореальных лесов (обзор) // Изв. РАН. Сер. Биол. 2022а. № 6. С. 668–677.
- Разгулин С. М. Цикл азота в экосистемах южной тайги Европейской России. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2022б. 161 с.
- Хабибуллина Ф. М., Кузнецова Е. Т. Характеристика почвенной микробиоты во вторичных лиственных лесах подзоны средней тайги (Республика Коми) // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2014. Т. 16, № 1 (3). С. 891–895.

- Bailey V. L., Smith J. L., Bolton H. Novel antibiotics as inhibitors for the selective respiratory inhibition method of measuring fungal: bacterial ratios in soil // *Biology and Fertility of Soils*. 2003. Vol. 38. P. 154–160.
- Baskaran P., Hyvönen R., Berglund S., Clemmensen K., Ågren G., Björn D., Lindahl B., Manzoni S. Modeling the influence of ectomycorrhizal decomposition on plant nutrition and soil carbon sequestration in boreal forest ecosystems // *New Phytologist*. 2017. Vol. 213. P. 1452–1465.
- Blagodatskaya E., Dannenman M., Gashe R., Butterbach-Bahl K. Microclimate and forest management alter fungal-to-bacterial ratio and N₂O-emission during rewetting in the forest floor and mineral soil of mountainous beech forests // *Biogeochemistry*. 2010. Vol. 97. P. 55–70.
- Boyle S. A., Yarwood R. R., Peter J. Bottomley P. J., Myrold D. D. Bacterial and fungal contributions to soil nitrogen cycling under Douglas fir and red alder at two sites in Oregon // *Soil Biol. and Biochem.* 2008. Vol. 40. P. 443–451.
- Castaldi S., Smith K. A. Effects of cycloheximide on N₂O and NO₃⁻ production in a forest and an agricultural soil // *Biology and Fertility of Soils*. 1998. Vol. 27. P. 27–34.
- Chigineva N. I., Aleksandrova A. V., Marhan S., Kandeler E., Tiunov A. V. The importance of mycelial connection at the soil–litter interface for nutrient translocation, enzyme activity and litter decomposition // *Appl. Soil Ecol.* 2011. Vol. 51. P. 35–41.
- Compton J. E., Watrud L. S., Porteous L. A., de Grood S. Response of soil microbial biomass and community composition to chronic nitrogen additions at Harvard forest // *Forest Ecol. and Management*. 2004. Vol. 196. P. 143–158.
- de Boer W., Folman L. B., Summerbell R. C., Boddy L. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development // *FEMS Microbiol. Rev.* 2005. Vol. 29. P. 795–781.
- He L., Rodrigues J. L. M., Soudzilovskaia N. A., Barcelor M., Olsson P. A., Song C., Tedersoo L., Yuan F., Yuan F., Lipson D. A., Xu X. Global biogeography of fungal and bacterial biomass carbon in topsoil // *Soil*. 2020. Vol. 151. 108024.
- Landi L., Badalucco L., Pomare F., Nanniperi P. Effectiveness of antibiotics to distinguish the contributions of fungi and bacteria to net nitrogen mineralization, nitri- fication and respiration // *Soil Biol. and Biochem.* 1993. Vol. 25. P. 1771–1778.
- Lindahl B., Tunlid A. Ectomycorrhizal fungi – potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs // *New Phytologist*. 2015. Vol. 205. P. 1443–1447.
- Llado S., Lypez-Mondejar R., Baldrian P. Forest Soil Bacteria: Diversity, Involvement in Ecosystem Processes, and Response to Global Change // *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.* 2017. Vol. 81 (2). e00063–16.
- Mašinová T., Yurkov A., Baldrian P. Forest soil yeasts: Decomposition potential and the utilization of carbon sources // *Fungal Ecol.* 2018. Vol. 34. P. 10–19.
- Morrison E. W., Serita D., Frey S. D., Sadowsky J. J., van Diepen L. N. A., Thomas W. K., Pringle A. Chronic nitrogen additions fundamentally restructure the soil fungal community in a temperate forest // *Fungal Ecol.* 2016. Vol. 23. P. 48–57.
- Odriozola I., Navrátilová D., Tláskalová P., Klinarová T., Červenková Z., P. Kohout P., Větrovský T., Čížková P., Starý M., Baldrian P. Predictors of soil fungal biomass and community composition in temperate mountainous forests in Central Europe // *Soil Biol. and Biochem.* 2021. Vol. 161. 108366.
- Petrovič M., Briški F., Kaštelen-Macan M. Biosorption and biodegradation of humic substances by *Trichoderma viride* // *Prehrambeno-Tehnology Biotechnol. Rev.* 1993. Vol. 31. P. 145–149.
- Phillips L., Ward V., Jones M. Ectomycorrhizal fungi contribute to soil organic matter cycling in sub-boreal forests // *The ISME J.* 2014. Vol. 8. P. 699–713.
- Sponseller R., Gundale M., Futter M., Ring E., Nordin A., Nařesholm T., Laudon H. Nitrogen dynamics in managed boreal forests: Recent advances and future research directions // *Ambio*. 2016. Vol. 45. P. 175–187.
- Starke R., Mondéjar R., Human Z., Navrátilová D., Šturssová M., Větrovský T., Olson H., Orton D., Callister S., Lipton M. et al. Niche differentiation of bacteria and fungi in carbon and nitrogen cycling of different habitats in a temperate coniferous forest: A metaproteomic approach // *Soil Biol. and Biochem.* 2021. Vol. 155. 108170.
- Strickland M., Rousk J. Review Considering fungal: bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications // *Soil Biol. and Biochem.* 2010. Vol. 42. P. 1385–1395.
- West A. W. Improvements to the selective respiratory inhibition technique to measure eukaryote: prokaryote ratios in soils // *J. Microbiol. Methods*. 1986. Vol. 5. P. 125–138.

The role of fungi and bacteria in the mineralization of nitrogen compounds in the soil of the southern taiga birch forest in European Russia

S. M. RAZGULIN¹, L. V. VORONIN²

¹*Institute of Forest Science RAS
143030, Moscow region, Odintsovsky district, p. Uspenskoe, Sovetskaya str., 21*

²*Yaroslavl State Pedagogical University K. D. Ushinsky
150000, Yaroslavl, Respublicanskaya str., 108/1
E-mail: root@ilan.ras.ru*

The contribution of fungi and bacteria to the process of net ammonification in the soddy-podzolic soil of the sour-bilberry birch forest of the Yaroslavl region was determined using inhibitory analysis. Representatives of the genera *Penicillium* Link (70–99 %) and *Trichoderma* Pers. (6–20 %) dominated in the mycobiota of saprotrophic fungi. Seasonal changes in the total number of fungi and the content of C_{org} and N_{org} in the soil correlated only in the eluvial horizon, with $r = -0.8$ and -0.7 . In horizons A₀ and A₂, total fungal abundance was negatively correlated with nitrogen accumulation, with $r = -0.85$ – -0.89 . It has been established that the litter is characterized by an equal participation of fungi and bacteria in this process. In the humus horizon, a slight excess of the participation of fungi over bacteria was noted. In the eluvial part of the profile, the contribution of bacteria is slightly higher than the contribution of fungi. The maximum air temperature is able to regulate the seasonal dynamics of the number of saprotrophic fungi in the soil.

Key words: mycobiota of saprotrophic fungi, bacteria, net ammonification, inhibitory analysis.