

Разнообразие сообществ грибов и бактерий и динамика физико-химических свойств древесины широколиственных видов деревьев и ели европейской в ходе деструкции после массового ветровала

Ханина Л.Г.¹, Волобуев С.В.^{1,2}, Смирнов В.Э.^{1,3}, Тутукина М.Н.^{4,5,6}, Шелякин П.В.^{4,7}, Бобровский М.В.^{1,8}

¹*Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИМП им. М.В. Келдыша РАН*

²*Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН*

³*Центр по проблемам продуктивности и экологии лесов РАН*

⁴*Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН*

⁵*Сколковский институт науки и технологий*

⁶*Институт биофизики клетки РАН, обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН*

⁷*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН*

⁸*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН*

khanina.larisa@gmail.com

На основе анализа плодовых тел ксилотрофных афиллофороидных грибов и результатов метагеномного анализа валежной древесины разной степени деструкции оценивается видовое разнообразие ксилобионтных грибов и бактерий после массового ветровала 2006 года в многовидовом широколиственном лесу в заповеднике “Калужские засеки”. Оценка разнообразия и состава грибов и бактерий в древесине 8 видов деревьев, находящихся на 5 стадиях разложения, проводится совместно с анализом их взаимосвязей с таксономической принадлежностью валежа, степенью деструкции древесного субстрата, а также его физико-химическими характеристиками. Деструкция древесины в малонарушенных широколиственных лесах после ветровала сопровождалась увеличением содержания азота и уменьшением кислотности древесины; значимое изменение содержания углерода в древесине не наблюдалось. На восьми стволах и 33 поперечных спилах восьми видов деревьев по плодовым телам было идентифицировано 100 видов базидомицетов, из них 52 вида были редкими для Европейской России, 46 видов – новыми для региона. Высокое разнообразие грибного сообщества, определенное по плодовым телам, коррелировало с разнообразием древесного субстрата и наличием древесины на разных стадиях разложения.

Ключевые слова: биоразнообразие, микобиота, метагеномный анализ, крупные древесные остатки, валежная древесина

Diversity of fungal and bacterial communities and dynamics of physicochemical traits of wood of broad-leaved tree species and European spruce during decomposition after a mass windthrow

Khanina L.¹, Volobuev S.^{1,2}, Smirnov V.^{1,3}, Tutukina M.^{4,5,6}, Shelyakin P.^{4,7}, Bobrovsky M.^{1,8}

¹*Institute of Mathematical Problems of Biology of RAS, M.V. Keldysh Institute of Applied Mathematics of RAS*

²*V.L. Komarov Botanical Institute of RAS*

³*Center for Forest Ecology and Productivity of RAS*

⁴*A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems of RAS*

⁵*Skolkovo Institute of Science and Technologies*

⁶*Institute of Cell Biophysics of RAS, PSCBR RAS*

⁷*N.I. Vavilov Institute of General Genetics of RAS*

⁸*Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science of RAS, PSCBR RAS*

Based on the analysis of fruiting bodies of xylophilous aphylophoroid fungi and results of metagenomic analysis of dead wood at different decay stage, we estimate species diversity of xylobiont fungi and bacteria after a mass windthrow in 2006 in a multi-species broad-leaved forest in the Kaluzhskie Zaseki State Nature Reserve. We assess the diversity and composition of fungi and

bacteria in wood of 8 tree species at 5 stages of decomposition together with analysis of their relationships with taxonomic identity of dead trees, their decay stage, and physical and chemical treats. Destruction of wood in intact broadleaved forests after windthrow was accompanied by an increase in nitrogen content and a decrease in wood acidity; no significant change in wood carbon concentration was observed. We identified 100 species of basidiomycetes on fruit bodies of 8 trunks and 33 cross-sections of eight tree species. From 100 fungi species, 52 species were rare for European Russia, and 46 species were new for the region. The high diversity of the fungal community identified from fruit bodies correlated with the diversity of the wood substrate and the presence of wood at different stages of decomposition.

Key words: biodiversity, mycobiota, metagenomic analysis, coarse woody debris, dead wood.

1. Введение

Крупные древесные остатки (валежная древесина) играют важную роль в круговороте питательных веществ в качестве временного запаса углерода и макро- и микроэлементов, которые становятся доступными для биоты в процессе деструкции валежа. Понимание факторов, влияющих на процесс разложения древесины, необходимо для оценки способности лесов секвестрировать углерод, что является одним из ключевых вопросов для решения проблем, связанных с изменением климата [1, 2]. Грибы и бактерии являются основными деструкторами валежа [3–6], при этом сообщества ксилотрофных грибов высоко разнообразны и включают редкие и исчезающие таксоны [7–9]. Несмотря на высокую значимость, исследования процессов разложения древесины по сути только начинаются; понимание взаимосвязи между видовым разнообразием грибов и деструкцией валежа только формируется [8, 10, 11]. Это связано с появлением новейших методов анализа природных экосистем, методов оценки их разнообразия и функционирования. Особое значение приобретают метабеномные исследования, позволяющие дополнить разнообразие грибов, определенных по плодовым телам, их скрытым разнообразием, а также проанализировать бактериальное сообщество, развивающееся в валежной древесине. Целью исследования является оценка разнообразия ксилотрофных грибов и бактерий на участках массового ветровала, который произошел в 2006 г. в широколиственных лесах заповедника «Калужские засеки». Леса заповедника являются уникальными по своему многовидовому составу, малой нарушенности и относительно большой территории [12]; они являются «лесами высокой натуральности» (Forests of High Naturalness), «точками отсчета» для постановки и решения задач устойчивого управления лесами и охраны биоразнообразия.

2. Методы

Полевые исследования проводили в 2020 и 2021 гг. на участке ветровала, расположенного в экотопе флювио-гляциальных песков [13]. Исследование включало (1) отбор 225 образцов древесины на физико-химический анализ из лежащих стволов 8

видов деревьев на 5 стадиях разложения и 24 образцов из стоящих деревьев тех же видов для характеристики начальной (нулевой) стадии деструкции; (2) учет и сбор плодовых тел ксилотрофных базидиомицетов на лежащих стволах восьми видов деревьев и (3) сбор древесной стружки (стерилизованными сверлами с последующей заморозкой) с бревен 8 видов и 5 стадий разложения (в 3х-кратной повторности) для метабеномного анализа. Исследовали валеж семи видов отдела Angiospermae *Quercus robur* (далее – дуб), *Fraxinus excelsior* (ясень), *Ulmus glabra* (вяз), *Tilia cordata* (липа), *Acer platanoides* (клен), *Populus tremula* (осина), *Betula pendula* (береза) и одного вида отдела Gymnospermae *Picea abies* (ель). Стадию разложения (от минимальной первой до максимальной пятой) оценивали по общепринятой методике [14] с модификациями для валежа широколиственных видов деревьев [15]. Плодовые тела грибов учитывали на участках длиной 1 м на 8 стволах (180 площадок) и 33 поперечных спилах на 27 стволах. Фиксация плодовых тел грибов была выполнена в соответствии с общепринятыми методами изучения макромицетов [16]; идентификация собранных образцов проведена с использованием методов световой микроскопии и стандартного набора реактивов. Для трех пилотных образцов проведена пробоподготовка и предварительно оценён состав бактериального и грибного сообществ с помощью секвенирования ампликона вариабильного региона V4 гена 16S рибосомальной РНК и ампликона ITS2, соответственно, и последующего выполнения биоинформатического анализа. Содержания С и N в образцах древесины были определены на автоматическом CHNS-анализаторе; рН оценивали в водном супернатанте, полученном из смеси гомогенизированного образца массой 0.5 г с деминерализованной водой (1:25). Для оценки эффектов древесных пород и стадий разложения на варьирование физико-химических характеристик древесины выполняли серию дисперсионных анализов в системе R [17]. Индикаторные виды базидомицетов, определенных по плодовым телам, рассчитывали для древесных видов по методу IndVal [18] в программе PC-ORD [19].

3. Результаты

Начальные плотности древесины (образцы из живых деревьев), существенно варьировали и возрастали в ряду ель < осина < липа < береза < дуб < вяз < клен < ясень [20], что в основном совпадало с порядком, полученным в других исследованиях [7, 21]. В ходе деструкции средняя плотность древесины уменьшалась почти в 10 раз относительно исходных значений (рис. 1): от 0.465 ± 0.13 (sd здесь и далее) г см⁻³ у живых деревьев до 0.053 ± 0.02 г см⁻³ на пятой стадии разложения.

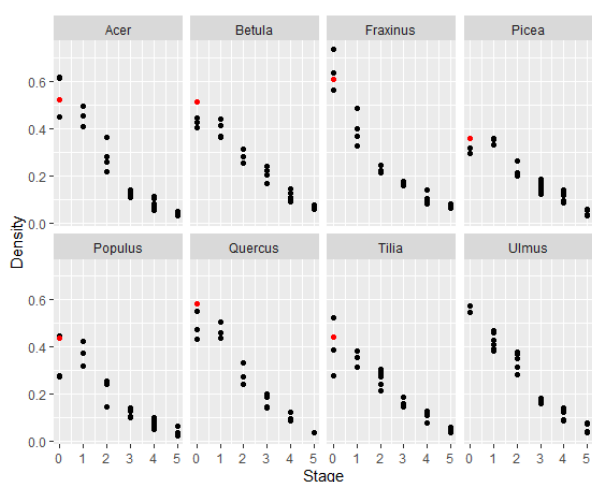


Рис. 1. Объемная плотность древесины (г см⁻³) по стадиям разложения от 0 до 5 для восьми видов деревьев. Черные точки – полевые наблюдения; красные точки – литературные данные [7] для 7 видов деревьев, кроме вяза, и [22] для вяза.

Наблюдалась высокая гетерогенность плотности и стадий разложения древесины: отмечено до 4х стадий деструкции, как в пределах одного бревна, так и на одном поперечном спиле. Лежащие стволы осины и березы (иногда липы) часто имели обширные полости, которые у березы были прикрыты еще не разложившейся корой. Вместе с тем, участки слабо разложившейся древесины также встречались внутри стволов всех видов; для липы, ясеня, вяза и клена (реже березы) они были найдены на стволах с ортотропными побегами (живыми и мертвыми), сформированными из спящих почек упавших деревьев. Для дуба фрагменты древесины третьей и четвертой стадий разложения были найдены только на склетных ветвях лежащих стволов.

Анализ химических свойств древесины показал, что процентное содержание углерода значительно различалось между видами деревьев (было максимально у липы и ели), но не различалось между стадиями и составляло в среднем 45.8 ± 2.4 %, что ниже обычно наблюдаемого среднего значения 48.5 % [23]. Процентное содержание азота между видами значительно не различалось, но различалось между стадиями: наблюдался положительный линейный тренд от 0.2 ± 0.1 % на начальной стадии до 0.9 ± 0.5 % на пятой стадии. Кислотность древесины у клена и

вяза (6.1 ± 1.1 и 5.8 ± 0.6 , соответственно) была значительно ниже, чем у всех остальных видов (4.9 ± 0.7). В целом у всех видов значения рН были минимальны на первой и второй стадиях разложения, затем возрастали; тренд квадратичный.

На восьми стволах и 33 поперечных спилах восьми видов деревьев по плодовым телам было идентифицировано 100 видов базидиомицетов, из них 52 вида были редкими для Европейской России, 46 видов – новыми для Калужской области [24, 25]. Больше всего видов было отмечено на ели (34) и на клене остролистном (21). В отношении типа ксилотолиза преобладающей группой оказались грибы белой гнили, разлагающие лигнин (72 вида). К грибам бурой гнили, разлагающим целлюлозу, относилось 20 видов и 7 видов являлись микоризными. Более половины видов грибов (51) были встречены единично. Индикаторные виды, определенные по встречаемости базидиомицетов на 157 площадках (на 53-х метровых участках и 3-х спилах грибы отсутствовали), включали 24 вида, в том числе для берёзы *Fomes fomentarius*, для дуба *Hymenochaete rubiginosa*, *Xylobolus frustulatus*, для клена *Botriobasidium pruinosum*, *Datronia mollis*, *Tomentella ferruginea*, для осины *Artomyces pyxidatus*, *Phellinus tremula*, для ясеня *Phlebia tremellosa*.

На основе секвенирования пилотного набора из трёх образцов были получены сообщества бактерий и грибов, содержащие представителей с известной способностью к разложению древесины [6, 26]. В грибном сообществе прослеживалась смена доминирования представителей отдела *Ascomycota* на первой стадии разложения на представителей *Basidiomycota* на третьей стадии. Также от первой к третьей стадиям наблюдался рост разнообразия бактериального сообщества при уменьшении относительного числа представителей семейства *Acidobacteriaceae* и класса *Bacili* и увеличении числа представителей классов *Actinobacteria* и *Thermoleophila*.

Свойства древесины на разных стадиях разложения существенно зависят от состава деструкторов [6]. Увеличение содержания углерода в древесине в ходе разложения валежа, которое отмечается во многих работах [7, 23, 27], в нашем исследовании не наблюдалось, что, вероятно, связано с доминированием на участке грибов белой гнили, разлагающих лигнин. Увеличение концентрации азота, помимо изменения соотношения элементов в ходе деструкции, связано, вероятно, с активностью азотфиксирующих бактерий, что отмечается в ряде работ [6, 28] и планируется уточнить нами при дальнейших исследованиях.

4. Заключение

Деструкция древесины в малонарушенных широколиственных лесах после ветровала сопровождалась увеличением содержания азота и

уменьшением кислотности древесины; значимое изменение содержания углерода в древесине не наблюдалось. Высокое разнообразие грибного сообщества, определенное по плодовым телам, коррелировало с разнообразием древесного субстрата и наличием древесины разных стадий разложения. Дальнейшие исследования позволят выявить зависимости между структурой сообществ грибов и бактерий, определенной путем выявления скрытого разнообразия, и видом дерева, его характеристиками, стадией разложения субстрата; оценить метаболические возможности сообществ деструкторов древесины.

5. Благодарности

Работа поддержана грантом РНФ 22-24-01063.

6. Список литературы

1. Harmon M.E., Fasth B.G., Yatskov M., Kastendick D., Rock J., Woodall C.W. Release of coarse woody detritus-related carbon: A synthesis across forest biomes. *Carbon Balance Manag.* 2020. V. 15.
2. Harris N.L., Gibbs D.A., Baccini A., Birdsey R.A., De Bruin S. et al. Global maps of twenty-first century forest carbon fluxes. *Nat. Clim. Chang.* 2021. V. 11. P. 234–240.
3. Bradford M.A., Warren II R.J., Baldrian P., Crowther T.W., Maynard D.S. et al. Climate fails to predict wood decomposition at regional scales. *Nat. Clim. Chan.* 2014. V. 4. P. 625–630.
4. Baldrian P. Forest microbiome: Diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiol. Rev.* 2017. V. 41. P. 109–130.
5. Lustenhouwer N., Maynard D.S., Bradford M.A., Lindner D.L., Oberle B., Zanne A.E., Crowther T.W. A trait-based understanding of wood decomposition by fungi. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2020. V. 117. P. 11551–11558.
6. Tláskal V., Brabcová V., Větrovský T., Jomura M., López-Mondéjar R. et al. Complementary roles of wood-inhabiting fungi and bacteria facilitate deadwood decomposition. *mSystems.* 2021. V. 6. Article No. e01078-20.
7. Kahl T., Arnstadt T., Baber K., Bässler C., Bauhus J. et al. Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *For. Ecol. Manag.* 2017. V. 391. P. 86–95.
8. Müller J., Ulyshen M., Seibold S., Cadotte M., Chao A. et al. Primary determinants of communities in deadwood vary among taxa but are regionally consistent. *Oikos.* 2020. V. 129. P. 1579–1588.
9. Nordén J., Abrego N., Boddy L., Bässler C., Dahlberg A. et al. Ten principles for conservation translocations of threatened wood-inhabiting fungi. *Fungal Ecol.* 2020. V. 44. 100919.
10. van der Wal A., Ottosson E., de Boer W. Neglected role of fungal community composition in explaining variation in wood decay rates. *Ecology.* 2015. V. 96. P. 124–133.
11. Fukasawa Y., Matsukura K. Decay stages of wood and associated fungal communities characterise diversity–decomposition relationships. *Sci. Rep.* 2021. V. 11. 8972.
12. *European Russian forests. Their current state and features of their history.* Eds. Smirnova O.V., Bobrovsky M.V., Khanina L.G. Netherlands: Springer, 2017. Plant and Vegetation. V. 15.
13. Бобровский М.В., Стаменов М.Н. Катастрофический ветровал 2006 года на территории заповедника «Калужские засеки». *Лесоведение.* 2020. № 6. С. 523–536.
14. Renvall P. Community structure and dynamics of wood-rotting Basidiomycetes on decomposing conifer trunks in northern Finland. *Karstenia.* 1995. V. 35. P. 1–51.
15. Khanina L.G., Bobrovsky M.V. Value of large *Quercus robur* fallen logs in enhancing the species diversity of vascular plants in an old-growth mesic broad-leaved forest in the Central Russian Upland. *For. Ecol. Manag.* 2021. V. 491. Article No. 119172.
16. Lodge D.J., Ammirati J.F., O'Dell T.E., Mueller G.M., Huhndorf S.M. et al. Terrestrial and lignicolous macrofungi. In: *Biodiversity of Fungi. Inventory and Monitoring Methods.* Burlington: Academic Press, 2004. P. 127–172.
17. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. *R Development Core Team.* Vienna, Austria, 2021.
18. Dufréne M., Legendre P. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* 1997. V. 67. P. 345–366.
19. McCune B., Mefford M.J. *PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data.* Version 7.07. MjM Software, Gleneden Beach, 2018.
20. Khanina L., Bobrovsky M., Smirnov V., Romanov M. Wood decomposition, carbon, nitrogen, and pH dynamics in logs of 8 tree species 14 and 15 years after catastrophic windthrow in a mesic broad-leaved forest in the Central Russian Upland. *For. Ecol. Manag.* Submitted.
21. Yang S., Sterck F.J., Sass-Klaassen U., Cornelissen J.H.C., van Logtestijn R.S.P. et al. Stem trait spectra underpin multiple functions of temperate tree species. *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. Article No. 769551.
22. Zanne A.E., Lopez-Gonzalez G., Coomes D.A., Ilic J., Jansen S., Lewis S.L., Miller R.B., Swenson N.G., Wiemann M.C., Chave J. Data from: Towards a worldwide wood economics spectrum. *Dryad, Dataset.* 2009. doi: [10.5061/dryad.234](https://doi.org/10.5061/dryad.234)

23. Martin A.R., Domke G.M., Doraisami M., Thomas S.C. Carbon fractions in the world's dead wood. *Nat. Commun.* 2021. V. 12. 889. doi: [10.1038/s41467-021-21149-9](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21149-9)
24. Volobuev S. New and noteworthy records of aphyllorphoroid fungi from an oldgrowth mesic broad-leaved forest in the Central Russian Upland (Kaluga Region, Russia). *Bot. Serb.* Submitted.
25. Волобуев С.В., Ханина Л.Г. Разнообразие ксилотрофных афиллофороидных грибов на массовом ветровале в полидоминантном широколиственном лесу (на примере заповедника "Калужские засеки"). В: *Материалы V (XIII) Международной ботанической конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге (25-29 апреля 2022 г.)* СПб.: БИН РАН, 2022. С. 130.
26. Шелякин П., Тутукина М., Рыбина А., Волобуев С., Бобровский М., Ханина Л. Метагеномный анализ ксилобионтных грибов и бактерий в валежных стволах лиственных и хвойных деревьев разной степени деструкции после массового ветровала в полидоминантном широколиственном лесу. В: *Информационные технологии и системы. Биоинформатика*, 17-21 февраля 2022, Вороново. В печати.
27. Yang S., Poorter L., Kuramae E.E., Sass-Klaassen U., Leite M.F.A. et al. Stem traits, compartments and tree species affect fungal communities on decaying wood. *Environ. Microbiol.* 2022. doi: [10.1111/1462-2920.15953](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15953)
28. Tláskal V., Baldrian P. Deadwood-inhabiting bacteria show adaptations to changing carbon and nitrogen availability during decomposition. *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. doi: [10.3389/fmicb.2021.685303](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.685303)