

УДК 581.557.24

Д. В. Веселкин**Методические особенности оценки формирования эктомикориз: изменчивость в связи с порядком ветвления корней**

Рассмотрены особенности формирования эктомикориз на главном и боковых корнях всходов *Pinus sylvestris*. При большей скорости роста главного корня он относительно хуже, чем боковые корни, оснащён поглощающими органами (детерминированными корнями) и относительно меньшая их доля трансформирована в эктомикоризы. Погрешности определения разных характеристик строения корней и микоризообразования, которые могут быть обусловлены неправильным выбором порядка измеряемых корней, могут достигать 1,5—2,5 раз.

Ключевые слова: эктомикоризы, морфогенез, порядки ветвления корней, плотность корней, активность микоризообразования, *Pinus sylvestris*.

Симбиотический характер почвенного питания большинства древесных растений, в частности хвойных, — важная, но недостаточно учитываемая черта их биологии. Конец XX — начало XXI столетия ознаменовались огромным прогрессом в познании молекулярных, генетических и физиологических механизмов регуляции формирования эктомикориз.

Несмотря на активное внедрение в практику микоризных исследований современных молекулярных и аналитических методов, далеко не исчерпаны исследовательские возможности стандартных подходов, близких к классическим методам морфологии, анатомии и экологии растений. Эта ситуация, по-видимому, характерна и для других биологических дисциплин. Например, так оценивают авторы современного учебника по экологии растений оправданность затрат на высокотехнологичное оборудование: «...некоторые из этих детерминантов роста можно довольно просто установить, используя весы и сушильный шкаф. ...Непонятно, почему при скудных средствах на исследования... прежде всего вводится в действие дорогая газоизмерительная аппаратура, когда можно провести ничуть не менее полноценные исследования остальных параметров роста гораздо более простыми средствами» [9, с. 97]. Примером продуктивного использования макроморфологического подхода в области изучения микориз может быть способ количественной оценки их значения для развития растений в естественных местообитаниях вне стерильных экспериментов [1, 6, 7].

Однако очевидно, что любые, даже считающиеся стандартными методические приёмы необходимо уточнять и верифицировать, при необходимости — дополнять и модифицировать, чтобы они позволяли решать новые исследовательские задачи на требуемом уровне точности и надёжности. Методические основы анализа корневых систем древесных с целью изучения микориз были в основном сформулированы Н. В. Лобановым [13] и затем И. А. Селивановым [15, 16]. Эти разработки до настоящего времени в той или иной мере лежат в основе большинства отечественных работ по микоризам древесных. В них, к сожалению, весьма неглубоко затрагивается вопрос о том, корни каких порядков необходимо анализировать для получения точных характеристик микоризообразования. Говорится лишь о необходимости сбора «тончайших корневых ответвлений» [13, с. 30; 16, с. 17] или о «наиболее тонких боковых корнях II и III порядков» [16, с. 18]. Такая ситуация отчасти удивительна, поскольку вопрос о строении корней разных порядков — один из центральных в традиционной ризологии [11, 12, 18]. Необходимо, правда, заметить, что традиционная ризология практически не затрагивает симбиотическую

© Веселкин Д. В., 2013

проблематику. В целом важный принцип иерархической организации корневых систем строже всего реализуется при выделении и изучении именно последовательных порядков ветвления корней.

Поэтому имея в виду желательность общего анализа методических особенностей оценки количественных и макроморфологических характеристик эктомикориз, попытаемся сначала решить одну частную задачу и оценить изменчивость количественных и макроморфологических характеристик микоризообразования в связи с порядком ветвления корней.

Материал и методы

Рассмотрим особенности строения и формирования эктомикориз на главном и боковых корнях на примере данных об особенностях строения и микоризации корней ювенильных (однолетних) особей сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произраставших в разных условиях. Использовано три блока материалов (всего порядка 400 особей): 1) всходы с поверхности почвы в естественных лесах (условия сбора материала в [18]); 2) сеянцы из трёх лесных питомников на территории Свердловской обл. [3]; 3) сеянцы, выращенные в разных вариантах вегетационного эксперимента в теплице в искусственном субстрате [4].

У каждой особи отдельно для главного корня, порядок которого считали нулевым, и для боковых недетерминированных (проводящих) корней I порядка определяли: 1) длину (мм); 2) плотность расположения корней последующих порядков ветвления (шт./100 мм длины корня); 3) долю детерминированных (коротких, поглощающих) корней, трансформированных в эктомикоризы, — показатель интенсивности или активности микоризации.

Результаты и их обсуждение

Длина корней. Самое легко устанавливаемое и легко объяснимое различие между главным корнем и боковыми корнями I порядка всходов и сеянцев *P. sylvestris* — бо́льшая, в среднем примерно в 4—6 раз, абсолютная длина первого по сравнению со вторыми (рис. 1).

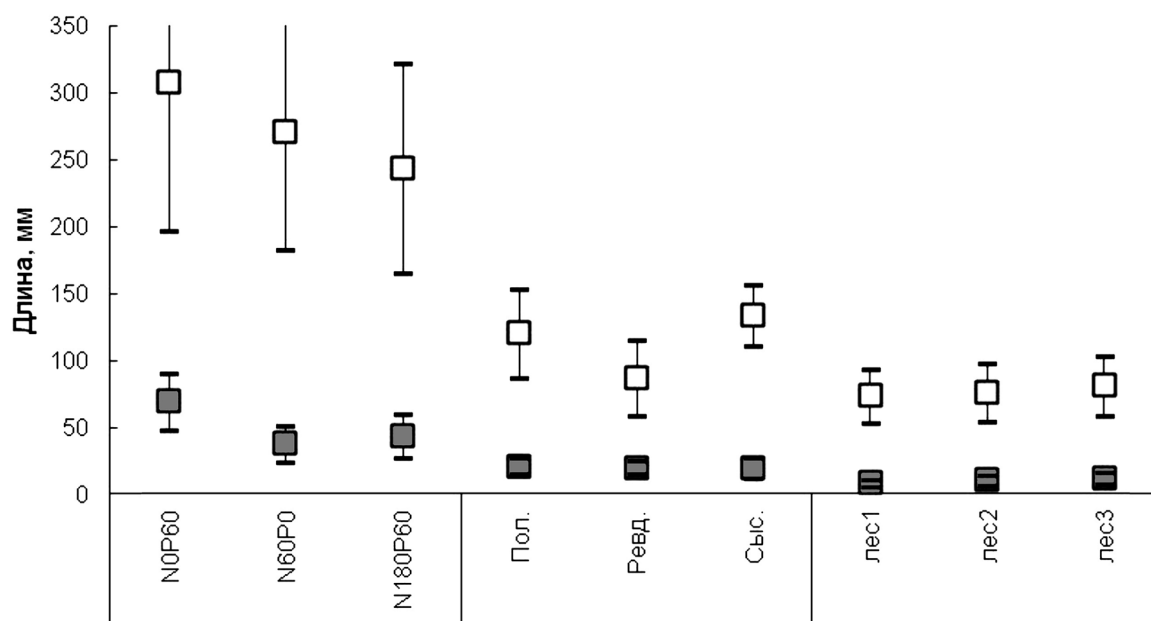


Рис. 1. Длина главного и среднего бокового недетерминированного корня I порядка у сеянцев и всходов *P. sylvestris* в вегетационном опыте при трёх уровнях внесения биогенных элементов, в трёх питомниках (Пол. — Полевской; Ревд. — Ревдинский; Сыс. — Сысертский) и на трёх участках ненарушенных лесов. Незалитые фигуры — главный корень; залитые фигуры — средний боковой корень I порядка; квадрат — среднее арифметическое значение; вертикальные линии — среднеквадратическое отклонение

Несмотря на большую абсолютную длину главного корня по сравнению со средним боковым корнем, во многих ситуациях боковые недетерминированные корни суммарно преобладают по длине над главным. Так, на них приходится 67—75% общей протяжённости недетерминированных корней у средней особи в условиях вегетационного эксперимента и 60—65% в лесных питомниках (рис. 2). Такое преобладание объясняется, безусловно, большим числом боковых недетерминированных корней: в среднем у особи их формируется 9—18 в вегетационном опыте и 7—12 в питомниках. Лишь в лесах к концу первого года развития главный корень (53—70%) может превышать суммарную протяжённость боковых корней (30—47%).

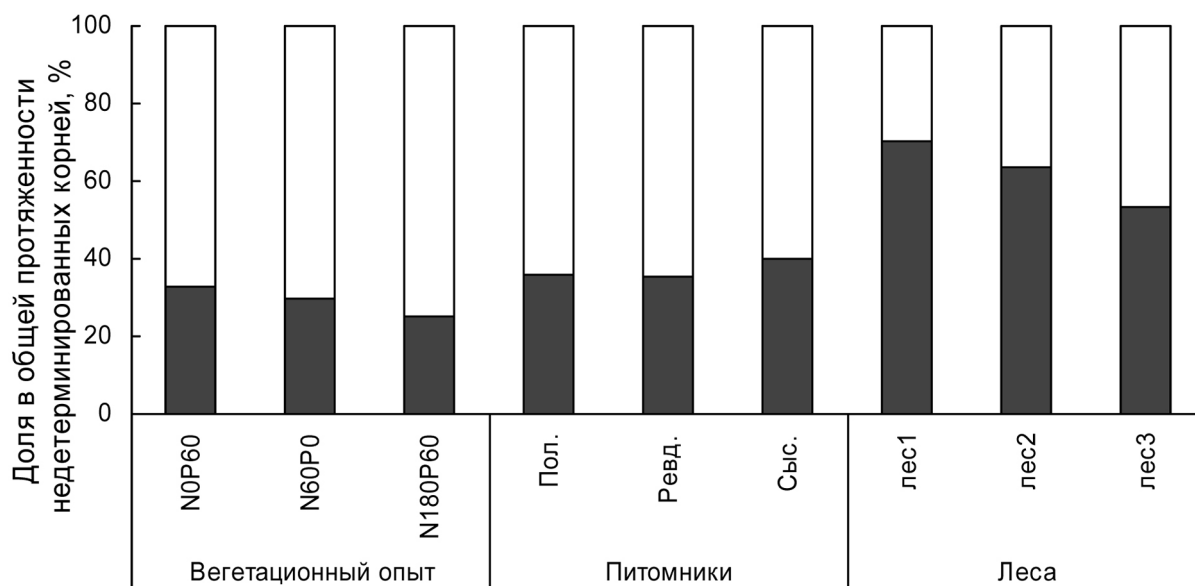


Рис. 2. Доли главного и боковых корней в общей протяжённости недетерминированных корней у семян и всходов *P. sylvestris* в вегетационном опыте при трёх уровнях внесения биогенных элементов, в трёх питомниках (Пол. — Полевской; Ревд. — Ревдинский; Сыз. — Сысертский) и на трёх участках ненарушенных лесов. Заштрихованная область — доля главного корня; незаштрихованная — боковых корней

Итак, главный корень ожидаемо активнее растёт в длину по сравнению с корнями подчинённых порядков. Но, несмотря на это, суммарная длина боковых корней зачастую существенно превосходит длину главного корня.

Оснащённость поглощающими органами и микоризообразование. Обсуждение ожидаемых размерных различий между главным и боковыми недетерминированными корнями необходимо, чтобы перейти к анализу менее очевидных особенностей их строения, связанных с различиями в плотности расположения и активности микоризообразования поглощающих (детерминированных) корней. Эти различия оценены на материале семян из разных вариантов вегетационного опыта и сводятся к следующему. На боковых корнях I порядка ответвления II порядка располагаются более густо или более часто, чем ответвления I порядка на главном корне. Эти различия не очень велики в абсолютном отношении, но однозначно подтверждаются статистически. Если принимать во внимание только детерминированные корни, то плотность их расположения возрастает на боковых корнях I порядка в 1,6—1,7 раза по сравнению с главным корнем (рис. 3б; по результатам двухфакторного ANOVA: $F_{\text{порядок ветвления (1;192)}} = 224,18; P < 0,001; F_{\text{вариант опыта (1;192)}} = 28,65; P < 0,001; F_{\text{порядок} \times \text{вариант (1;192)}} = 0,27; P = 0,606$).

Если на главном корне наряду с детерминированными корнями дополнительно учитывать число недетерминированных корней I порядка, то различия в плотности размещения боковых ответвлений между главным и боковыми корнями I порядка закономер-

но уменьшаются и составляют 1,2—1,3 раза (рис. 3а), но по-прежнему статистически существенны ($F_{\text{порядок ветвления (1;192)}} = 69,11; P < 0,001; F_{\text{вариант опыта (1;192)}} = 27,80; P < 0,001; F_{\text{порядок} \times \text{вариант (1;192)}} = 0,46; P = 0,498$). Эти результаты хорошо согласуются со сведениями, опубликованными другими авторами. Так, плотность микориз (неясно, однако, собственно микориз или микоризных окончаний) на боковых корнях I—II порядков превосходила плотность на главном корне в 1,2—1,9 раза у лиственницы, в 1,6—3,2 раза — у сосны и в 1,2—1,3 раза — у ели [17].

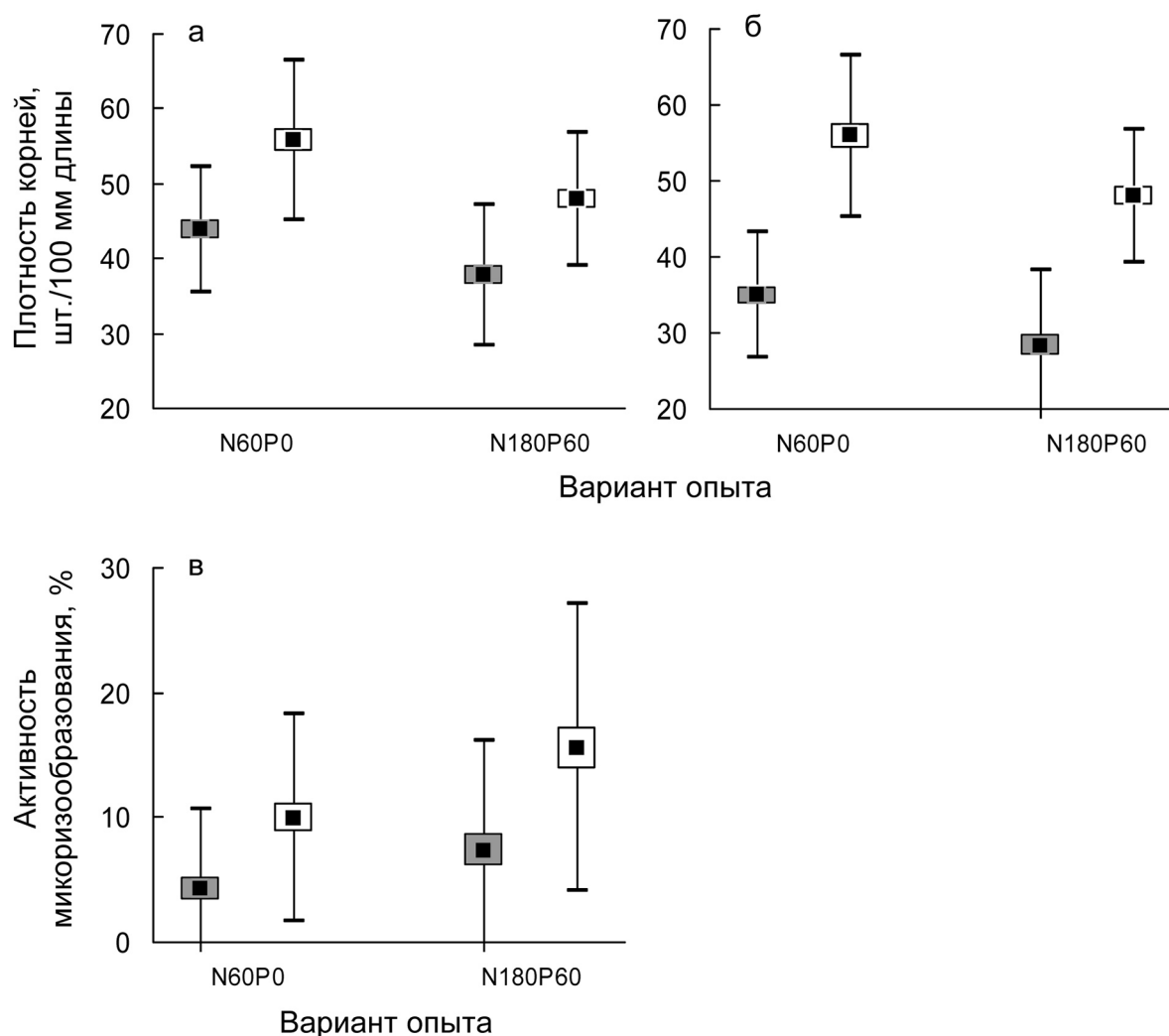


Рис. 3. Средняя плотность расположения боковых корней следующего порядка (а — детерминированных и недетерминированных; б — только детерминированных) и активность микоризообразования (в) на главных и боковых недетерминированных корнях I порядка 4-месячных сеянцев *P. sylvestris* в вегетационном опыте при двух уровнях внесения биогенных элементов. Залитые фигуры — главные корни; незалитые фигуры — боковые корни I порядка; квадрат — среднее арифметическое; прямоугольник — стандартная ошибка; вертикальные линии — стандартное отклонение

Возрастание плотности расположения боковых ответвлений на боковых корнях I порядка по сравнению с главным корнем может быть удовлетворительно объяснено различиями в скорости роста корней разных категорий. Хорошо известно, что со скоростью роста однозначно и положительно связана степень апикального доминирования, или, другими словами, степень подавления заложения боковых ответвлений в районе апикальной меристемы [10]. По нашим наблюдениям, дистальные, примыкающие к апикальным меристемам участки главного корня длиной до 40—60 мм (иногда даже до 80—120 мм)

могут абсолютно не нести боковых ответвлений, хотя обычная плотность размещения боковых отростков на главных корнях, регистрируемая в их базальных и средних частях, составляет 3,5—4,5 шт./10 мм. Как отмечено выше, скорость роста, а следовательно, и степень апикального доминирования у боковых корней существенно меньше, чем у главных. Поэтому вполне объяснимым выглядит регистрируемая у боковых корней повышенная до уровня 4,5—5,5 шт./10 мм плотность ответвлений II порядка. Таким образом, при меньшей скорости роста и закономерно меньшей, чем у главных корней, длине, боковые недетерминированные (проводящие) корни лучше оснащены детерминированными (короткими) корнями, специализированными к поглощению питательных веществ и воды.

Другим, менее прогнозируемым и потому более интересным различием является то, что короткие корни, расположенные на главном корне, относительно реже заселяются эктомикоризными грибами по сравнению с короткими корнями, расположенными на боковых корнях I порядка (рис. 3в). Наблюдаемые различия достигают двукратных и даже несколько более, чем двукратных, величин: активность микоризообразования на боковых корнях в зависимости от варианта обеспеченности азотом и фосфором в 2,1—2,3 раза выше, чем на главных корнях ($F_{\text{порядок ветвления (1;192)}} = 29,93; P < 0,001; F_{\text{вариант опыта (1;192)}} = 11,81; P = 0,001; F_{\text{порядок} \times \text{вариант (1;192)}} = 0,97; P = 0,325$). Этим различиям не удаётся предложить объяснений. Можно, по-видимому, предположить, что могут быть найдены физиологические, биохимические или гормональные особенности детерминированных корней в зависимости от того, на корнях какого порядка они возникли и расположены.

Общее описание строения корней в связи с их функциями. Установленные особенности строения главного и боковых корней феноменологически хорошо согласуются между собой. Например, следствия повышенной активности формирования эктомикориз (симбиотических поглощающих органов) на боковых проводящих корнях аналогичны их лучшей оснащённости детерминированными корнями (автономными поглощающими структурами). Поэтому различия между недетерминированными корнями при возрастании их порядка можно описать как снижение способности к освоению почвенного объёма при одновременном возрастании способности к интенсивной эксплуатации почвенных ресурсов (рис. 4).

Орган (структура)		
Недетерминированный корень 0-го порядка (главный корень сеянца)	Недетерминированный корень 1-го порядка (боковой)	Недетерминированные корни 2-го и последующих порядков
		
<p>Снижение скорости роста; уменьшение абсолютных размеров. Ослабление ростовой активности, т.е. функции экстенсивного освоения пространства или функции освоения почвенного объёма</p>		
		
<p>Возрастание плотности расположения детерминированных корней; возрастание доли микоризованных детерминированных корней. Усиление поглощающей активности, т.е. функции интенсивной эксплуатации эдафических ресурсов</p>		

Рис. 4. Соотношение выраженности функций экстенсивного освоения почвенного объёма и интенсивной эксплуатации ресурсов при возрастании порядка ветвления недетерминированных корней

Несмотря на то что особенности строения недетерминированных корней II и последующих порядков в настоящей работе не рассмотрены, представленная экстраполяция оправданна, поскольку затухание линейного роста и корнеродной активности и углубление специализации к поглотительной деятельности по мере увеличения порядка ветвления справедливо вплоть до самых тонких эктомикоризных корней [5]. Для описания строения корней разных порядков может быть использовано представление о компромиссах (трейдоффах) между разными свойствами организмов. Наличие таких компромиссов свидетельствует о запрете одновременной специализации во взаимоисключающих направлениях. В рассматриваемом случае речь идёт о невозможности существования структуры, которая была бы в равной степени способна к быстрому линейному росту, к ветвлению и к эффективному поглощению почвенных ресурсов. Для каждой из этих функций существует оптимальная схема строения (даже в пределах одной корневой системы).

Представленное на рисунке 4 описание замещающего характера выраженности функций роста и функций поглощения, с одной стороны, нерадикально отличается от традиционных в ризологии представлений о дифференциации корней на ростовые (быстро и медленного роста) и поглощающие. Однако отметим, что это подразделение, предложенное впервые Р. К. Саляевым [14] и затем неоднократно модифицированное, классифицирует не собственно корни, а корневые окончания. В нашем же случае предпринята попытка выявления особенностей строения сложного органа — недетерминированного корня, несущего другие корни последующих порядков, как автономные, так и симбиотические. От другого подразделения — на скелетные и тонкие корни — представление о непрерывном и постепенном взаимном замещении двух конкурирующих функций корней также достаточно отличается, поскольку обсуждаемые свойства и признаки строения (скорость роста, оснащённость поглощающими корнями, активность микоризообразования) не приложимы к собственно скелетным корням, т.е. к корням, миновавшим этап морфогенеза и выполняющим механическую и проводящую функции. Представление о континуальном характере взаимного замещения функций роста/освоения почвы и поглощающей активности для корней трёх классов (проводящих (первичного и вторичного строения), сосущих (микоризных и немикоризных) и ростовых) хорошо намечены в работе К. И. Еропкина [8], в которой показано снижение удельной поглотительной активности не только проводящих, но и ростовых корней сосны по сравнению с микоризмами.

Методические следствия. Возвращаясь к основной задаче, попробуем оценить, как учёт или неучёт установленных особенностей строения корней разных порядков может сказываться на характеристиках микоризообразования.

Прежде всего, очевидно, что при сравнении проб, образцов, особей или их групп по признакам, зависимым от порядка ветвления корней, необходимо стремиться обеспечить равное или пропорциональное представительство среди анализируемых корней фрагментов их разных порядков. Это должно позволить избежать ошибки следующего рода. Предположим, что исследователь сравнивает две похожие особи. У одной он проанализировал только главный корень, а у другой — только боковые. Только в силу этого сугубо методического обстоятельства различия для разных показателей могут достигать 1,5—2,5 раз! Следовательно, при сравнении необходимо стремиться анализировать: 1) или равные (стандартные) длины главных корней и корней последующих порядков у всех сравниваемых объектов и далее отдельно сравнивать главные корни с главными, а подчинённые с подчинёнными; 2) или такие части (фрагменты) главных корней и корней последующих порядков, которые были бы пропорциональны их длине у каждого объекта. Думается, что выбор конкретной схемы измерения должен быть обусловлен целью работы.

Немаловажно учитывать возможность ещё одного способа ошибиться, игнорируя различия между корнями разных порядков. Нередко в экспериментальной практике приходится сравнивать растения, имеющие очень контрастные характеристики общей морфологии корневых систем [1, 2, 4]. Например, одним из основных следствий произрастания ювенильных хвойных на субстратах, загрязнённых тяжёлыми металлами, является угнетение развития главного корня и компенсаторная активизация заложения боковых недетерминированных корней [1, 2]. Из материалов настоящего сообщения следует, что только одно это обстоятельство может быть ответственным за наблюдаемое в условиях загрязнения 20—50%-ное возрастание плотности расположения детерминированных корней и эктомикориз на недетерминированных корнях. Другими словами, при установлении таких характеристик, как «плотность микориз» или «активность микоризообразования», всегда необходимо фиксировать общие пропорции между корнями разных порядков ветвления. Недоучёт этого обстоятельства менее фатален, чем ошибка, описанная в предыдущем абзаце, но всё же может обеспечить погрешность измерения в 1,2—1,4 раза, т.е. 20—40%-ные отклонения, что сопоставимо или даже превышает амплитуду нормальной экологической изменчивости некоторых рассмотренных нами показателей.

Заключение можно сформулировать в виде двух следующих соображений.

1. Главные корни ювенильных хвойных закладывают боковые ответвления с меньшей частотой, чем боковые корни подчинённых порядков ветвления. При этом расположенные на главных корнях детерминированные корни трансформируются в эктомикоризы реже, чем аналогичные корни, расположенные на боковых корнях всходов. Различия между недетерминированными корнями при возрастании порядка их ветвления в общем виде описываются как постепенное снижение способности к захвату объёма почвы при возрастании способности к поглощению почвенных ресурсов.

2. Различия между недетерминированными корнями разных порядков в способности формировать поглощающие корни и эктомикоризы имеют большое методическое значение. Эти различия необходимо учитывать при планировании схем наблюдений для получения несмещённых оценок таких стандартных количественных характеристик микоризообразования, как «плотность микориз» или «активность микоризообразования».

Список использованной литературы

1. Веселкин Д. В. Строение и микоризация корней семян ели и пихты при изменении почвенного субстрата // Лесоведение. 2002. № 3. С. 12—17.
2. Веселкин Д. В. Морфология корневых систем и микоризообразование у ювенильных пихты сибирской и ели сибирской в условиях воздействия выбросов медеплавильного комбината // Лесоведение. 2006. № 4. С. 52—60.
3. Веселкин Д. В. Функциональное значение микоризообразования у однолетних семян сосны и ели в лесных питомниках // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. № 4 (54). С. 12—18.
4. Веселкин Д. В. Влияние уровня обеспеченности азотом и фосфором на структуру биомассы и развитие эктомикориз у всходов сосны обыкновенной // Аграрная Россия. 2009. Специальный выпуск. С. 53—54.
5. Веселкин Д. В. Возрастные изменения эктомикоризных корней *Abies sibirica* // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2009. № 37. С. 119—126.
6. Веселкин Д. В. Оценка влияния несимбиотических и симбиотических параметров подземных органов на развитие надземных органов всходов *Pinus sylvestris* // Экология. 2010. № 6. С. 414—419.
7. Веселкин Д. В. Способ разделения вкладов несимбиотических и симбиотических параметров подземных органов в развитие надземных органов эктомикоризных растений // Леса России и хозяйство в них / Урал. гос. лесотехн. ун-т. Екатеринбург, 2010. Вып. 1 (35). С. 57—63.
8. Еропкина К. И. Адсорбционная способность микоризных и немикоризных корней сосны обыкновенной // Микориза растений. Пермь, 1973. С. 62—71.
9. Ботаника : учебник для вузов : в 4 т. / П. Зитте [и др.] ; под ред. А. Г. Еленевского, В. Н. Павлова. М. : Академия, 2007. Т. 4 : Экология. 256 с.

10. Иванов В. Б. Клеточные механизмы роста растений. М. : Наука, 2011. 104 с.
11. Колесников В. А. Методы изучения корневой системы древесных растений. М. : Лесн. пром-сть, 1972. 152 с.
12. Красильников П. К. Методика полевого изучения подземных частей растений: с учётом специфики ресурсоведческих исследований. Л. : Наука, 1983. 208 с.
13. Лобанов Н. В. Микотрофность древесных растений. М. : Лесн. пром-сть, 1971. 216 с.
14. Саляев Р. К. К вопросу о классификации корней и корневых окончаний у древесных пород при лесоводственных и лесокультурных исследованиях // Вопросы лесоведения и лесной энтомологии в Карелии. М. ; Л., 1962. С. 53—58.
15. Селиванов И. А. Вопросы терминологии и классификации микориз и микоризоподобных образований // Микориза растений. Пермь, 1973. С. 3—44.
16. Селиванов И. А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М. : Наука, 1981. 232 с.
17. Селиванов И. А., Логинова В. Г. Влияние непрерывного освещения на микоризообразование у сеянцев хвойных пород // Вопросы биологии и экологии доминантов и эдификаторов растительных сообществ. Уч. зап. Перм. гос. пед. ин-та. Пермь, 1968. Т. 64. С. 247—251.
18. Усольцев В. А. Биологическая продуктивность лесов Северной Евразии. Методы, база данных и её приложения. Екатеринбург : УрО РАН, 2007. 635 с.
19. Veselkin D. V., Sannikov S. N., Sannikova N. S. Specific features of root system morphology and mycorrhiza formation in Scots pine seedlings from burned-out areas // Russian Journal of Ecology. 2010. Vol. 41, N 2. P. 139—146.

Поступила в редакцию 24.08.2013 г.

Веселкин Денис Васильевич, кандидат биологических наук
ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН
620144, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202
E-mail: denis_v@ipae.uran.ru

UDC 581.557.24

D. V. Veselkin

Methodical features of evaluation of the ectomycorrhiza formation: variability in connection with the roots branching order

The article considers the formation peculiarities of ectomycorrhizas on the main and lateral roots of *Pinus sylvestris* seedlings. When the growth rate of the main root is high it has less absorbing organs (determinate roots) than the lateral roots, thus the minor part of these organs is transformed into ectomycorrhizas. The standard deviations in determining different characteristics of the root and mycorrhizas structure, which may be the result of incorrect selection of the order of the measured roots, may comprise 1,5—2,5 times.

Key words: ectomycorrhiza, morphogenesis, root branching order, root density, activity of mycorrhiza formation, *Pinus sylvestris*.

Veselkin Denis Vasilyevich, Candidate of Biological Sciences
Institute of Plant and Animal ecology of the Ural division of the Russian Academy of sciences
620144, Russian Federation, Yekaterinburg, ul. 8 Marta, 202
E-mail: denis_v@ipae.uran.ru