

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

ЧИГИНЕВА Надежда Ивановна

**ВЛИЯНИЕ ДОСТУПНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ
УГЛЕРОДА И АЗОТА НА СТРУКТУРУ ГРИБНЫХ
СООБЩЕСТВ И СКОРОСТЬ ДЕСТРУКЦИИ
РАСТИТЕЛЬНОГО ОПАДА**

03.00.24 – микология
03.00.16 – экология

Автореферат
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва
2009

Работа выполнена на кафедре микологии и альгологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова и в Институте почвоведения университета Хохенхайм (Штутгарт, Германия).

Научные руководители: доктор биологических наук
Тиунов Алексей Владимирович
кандидат биологических наук
Александрова Алина Витальевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Кураков Александр Васильевич
кандидат биологических наук
Благодатская Евгения Валерьевна

Ведущая организация: **Институт Лесоведения РАН (ИЛАН)**

Защита диссертации состоится **15 мая 2009 года** в 15:30 на заседании диссертационного совета Д. 501.001.46 при Биологическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу:
119992, Москва, Ленинские горы, МГУ имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет (аудитория М-1).
Тел./факс: (495) 939-39-70

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан 14 апреля 2009 года.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
кандидат биологических наук

М.А. Гусаковская



Актуальность исследования

Теоретические и эмпирические работы показывают, что рост и активность почвенных микроорганизмов-деструкторов лимитированы, прежде всего, доступностью источников углерода (Daufresne, Loreau, 2001; Vance, Chapin, 2001; Ekblad, Nordgren, 2002). Несмотря на то, что в почве сосредоточены огромные запасы углерода, большая его часть находится в форме труднодоступных для микроорганизмов органических соединений. Водорастворимые соединения представляют собой относительно небольшую, но функционально очень важную фракцию (van Hees et al., 2005). Именно они играют ключевую роль в регуляции микробной активности. Широко известен феномен «прайминг эффекта» – изменения скорости деструкции органического вещества (особенно более стабильных гумусовых соединений) после внесения в почву доступного углерода (Kuzuyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2003). «Прайминг эффект» был обнаружен и исследовался преимущественно в лабораторных или крайне упрощенных естественных системах. Каким образом доступность питательных элементов (в первую очередь углерода и азота) влияет на процессы деструкции органического вещества и минерализации биогенных элементов в естественных условиях остается во многом неясным, прежде всего из-за недостаточной изученности функциональной организации почвенных сообществ. В частности, доступность углерода может контролировать интенсивность деструкционных процессов как путем влияния на общий уровень активности сапротрофных микроорганизмов, так и за счет избирательного подавления или стимуляции отдельных видов или функциональных групп микробного населения.

В данной работе мы попытались приблизиться к пониманию того, каким образом доступность питательных элементов влияет на темпы деструкции растительного опада, и как эти изменения связаны с таксономической и функциональной структурой сообщества грибов, важнейших разрушителей растительных остатков.

Цели и задачи исследования

Целью работы являлось изучение влияния доступности соединений углерода и азота на таксономический состав и физиологическую активность почвенных грибов и на динамику деструкции растительного опада.

Для решения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Экспериментально оценить влияние увеличения доступности углерода и азота на скорость деструкции модельных видов растительного опада.
2. Оценить влияние внесения доступного углерода и азота на обилие микромицетов в растительном опаде.
3. Исследовать влияние доступности углерода и азота на таксономическую структуру грибных сообществ растительного опада.
4. Оценить влияние доступности углерода и азота на ферментативную активность микробного сообщества растительного опада.

5. Исследовать роль мицелиальной связи между подстилкой и нижележащими почвенными горизонтами в регуляции темпов деструкции растительного опада.

Научная новизна и значение исследования

Впервые в полевых условиях проведены долгосрочные (два полевых эксперимента длиной 24 и 15 месяцев) многофакторные комплексные экспериментальные исследования динамики процессов деструкции растительного опада в лесных экосистемах в зависимости от доступности ключевых биогенных элементов – углерода и азота.

Впервые в полевых условиях экспериментально исследовано влияние доступности углерода и азота на таксономическую и функциональную структуру сообщества сапротрофных микровицетов.

Впервые в полевых условиях показано, что перенос азота гифами грибов из минеральной почвы в растительный опад является важным механизмом регуляции скорости деструкции растительного опада на поверхности почвы.

Полученные данные позволяют углубить представления о роли низкомолекулярных органических компонентов в регуляции динамики деструкции растительных остатков в почве.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на конференциях I(IX) Международной конференции молодых ботаников (Санкт-Петербург, 2006), Всероссийской конференции «Лесное почвоведение: итоги, проблемы, перспективы» (Сыктывкар, 2007), на XV конгрессе европейских микологов (Санкт-Петербург, 2007), на конференциях «Erasmus Mundus-2008», «Erasmus Mundus-2009» (Штутгарт, Германия, 2008, 2009) и на Междисциплинарном микологическом форуме 2009 (Москва, 2009).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 10 работ, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 1 работа находится в печати.

Объем и структура исследования

Диссертация состоит из введения, семи глав, выводов и списка литературы. В списке литературы 175 наименований, в том числе 147 на иностранных языках. Работа изложена на 120 страницах, включает 9 таблиц и 20 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ ДЕСТРУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОПАДА (обзор литературы)

Эта глава является обзором литературы по регуляции процессов деструкции органического вещества. Отмечена важность почвенных грибов как главных микроорганизмов-деструкторов, в процессах разложения растительного опада (Частухин, Николаевская, 1969; Борисова, 1988; Kjøller, Struwe, 1982; Osono et al., 2003 и др.). Рассмотрен вопрос о роли мицелиальной транслокации питательных элементов между подстилкой и нижележащими почвенными горизонтами в регуляции процессов деструкции (Beare et al., 1992; Frey et al., 2000; Frey et al., 2003, Tlalka et al., 2008 и др.).

Рассмотрены факторы, оказывающие влияние на активность микроорганизмов-деструкторов: температура, влажность, доступность основных биогенных элементов. Подробно рассмотрена регуляторная роль низкомолекулярных органических соединений в данном процессе, при этом обращено внимание на неоднозначность воздействия доступности органических соединений на скорость минерализации органического вещества почвы (Szolnoki et al., 1963; Wu et al., 1993; Degens, Sparling, 1996; Shen, Bartha, 1996; Miondi et al., 2006; Kuzyakov, Bol, 2006; Blagodatskaya et al., 2007; Ohm et al., 2007 и др.). Обсуждены возможные механизмы этого воздействия (de Nobili et al., 2001; Kuzyakov, 2000, 2002; Bell et al., 2003; Fontaine et al., 2003; Hamer, Marschner, 2005; Hobbie, 2005; Kuzyakov, Bol, 2006; Blagodatskaya et al., 2007; Blagodatskaya, Kuzyakov, 2008 и др.).

Глава 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полевая работа проводилась на базе двух биологических станций Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова: (1) экспериментальная площадка на базе биогеоценологической станции «Малинки», Московская область (2003-2005 гг.); (2) экспериментальная площадка на базе биологической станции «Черноголовка», Московская область (2006-2007 гг.). Лабораторные работы были проведены на кафедре микологии и альгологии Биологического факультета МГУ (2004-2007 гг.) и в Институте почвоведения университета Хохенхайм, Штутгарт, Германия (2008-2009 гг.).

2.1. Дизайн эксперимента

2.1.1. Экспериментальная площадка «Малинки»

Экспериментальная площадка «Малинки» была заложена в молодом мертвопокровном ельнике в сентябре 2003 года. Площадка была разделена на 28 подплощадок (примерно 40×60 см). В конце октября 2003 года на площадке были закопаны (глубина примерно 2 см) нейлоновые мешочки с опадом (размер ячеек

110 мкм). Каждый мешочек содержал по 1 грамму сухого опада осины (*Populus tremula* L.), дуба (*Quercus robur* L.) или ели (*Picea abies* (L.) Karst.). Всего было заложено 300 мешочков (по 100 каждого типа опада). Половину подплощадок поливали раствором сахарозы (10% водный раствор из расчета 50 г $C\ m^{-2}$), контрольные подплощадки поливали чистой водой.

Экспериментальные манипуляции проводили раз в две недели в течение вегетационного сезона (с мая по ноябрь). Мешочки с опадом вынимали после 12, 21 и 24 месяцев инкубации в почве, т.е. в сентябре 2004 г., июле и сентябре 2005 г. Образцы были заморожены и хранились при температуре $-18^{\circ}C$.

2.1.2. Экспериментальная площадка «Черноголовка»

В начале июня 2006 года на территории биостанции «Черноголовка» были заложены 2 экспериментальные площадки. На каждую было заложено по 160 нейлоновых мешочков (размер ячеек 110 мкм), содержащих по 2 грамма сухого веса опада осины (*Populus tremula* L.) или ольхи (*Alnus incana* (L.) Moench) (по 80 мешочков каждого вида опада на площадку). Мешочки были помещены на поверхность почвы и прикрыты сверху крупной сеткой. На площадке проводили следующие экспериментальные манипуляции:

(1) внесение соединений углерода и азота – углерод вносили в виде водного раствора сахарозы из расчета 16 г $C\ m^{-2}$ (количество вносимого углерода было снижено по сравнению с первой площадкой, так как мешочки были положены на поверхность почвы, а не прикопаны), азот добавляли в виде водного раствора нитрата аммония (1,05 г $N\ m^{-2}$). Углерод и азот вносили вместе или по отдельности во всех возможных комбинациях: О (контроль), +C, +N, +C+N;

(2) нарушение мицелиальной связи между опадом и минеральной почвой – половину мешочков слегка двигали, половину оставляли неподвижными. Эффективность этого приема подтверждена в предварительных экспериментах (Tiunov, 2009).

Все экспериментальные манипуляции проводили раз в 10 дней в течение вегетационного сезона (с мая по ноябрь).

После 15 месяцев деструкции, т.е. в сентябре 2007 года, мешочки с опадом были собраны. Замороженные образцы хранились при $-18^{\circ}C$.

2.2. Лабораторная обработка материала

В образцах измеряли потерю веса опада, определяли число колониеобразующих единиц (КОЕ) и таксономическую структуру сообществ микромицетов (метод посева из серийных разведений), проводили молекулярно-генетический анализ грибных сообществ и измеряли ферментативную активность. Измерения ферментативной активности и молекулярно-генетические анализ проводили только для образцов с экспериментальной площадки «Черноголовка».

Для определения **скорости деструкции** растительного опада измеряли потерю веса. Количество повторностей составляло 5-6 для каждого варианта опыта.

Метод посева из серийных разведений (Методы ..., 1991). В работе использовали три типа питательных сред: среда Чапека, агаризованное сусло и среда Гетчинсона (в качестве источника углерода – фильтровальная бумага). Численность микромицетов выражали в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) на грамм сухого опада. Относительное обилие грибных таксонов выражали в проценте колоний данного вида от общего числа выделенных в образце изолятов. Полученные микромицеты выделяли в чистую культуру для дальнейшего выяснения их видовой принадлежности по морфологическим признакам. Для оценки изменений в сообществах грибов опада рассчитывали индекс Шеннона, Симпсона и выравненность (Мэгарран, 1992). Было использовано по 4 повторности каждого варианта опыта.

Молекулярно-генетический анализ грибных сообществ. Из растительного опада была экстрагирована суммарная ДНК; ее концентрацию измеряли фотометрически и делали разведение до рабочей концентрации 10 нг/мкл. Полимеразную цепную реакцию проводили в два этапа ('nested PCR') со следующими грибными праймерами: (1) EF4/NS1 (ампликоны длиной примерно 1100 н.п.); (2) NS1/NS2+GC-довесок (ампликоны длиной примерно 550 н.п.). Продукты амплификации электрофоретически разделяли в денатурирующем градиентном геле (DGGE). Полученные гели окрашивали серебряным красителем. Гели сканировали и оцифрованные изображения обрабатывали в программе BioNumerics (AppliedMath). Было использовано по 3 полевые повторности; для анализа был взят опад с одной из подплощадок «Черноголовки».

Для определения таксономической принадлежности некоторых доминирующих видов был проведен анализ некоторых полученных фрагментов ДНК. Выбранные полосы (всего 36) были вырезаны из геля и повторно амплифицированы с праймерами NS1/NS2+GC-довесок. Полученные ампликоны были проверены на соответствие и чистоту в DGGE. При удачном исходе образец амплифицировали с праймерами NS1/NS2 без GC-довеска, с полученными ПЦР-продуктами проводили реакцию лигации (Invitrogen, Торо II). Продукты лигации трансформировали в геном электрокомпетентных клеток *E. coli* (штамм DH10B). Удачные клоны (в количестве 8 повторностей для каждой из полос геля, всего 288 клонов) отдавали в компанию GATC-biotech (Констанц, Германия) на расшифровку последовательностей ДНК. Полученные последовательности ДНК идентифицировали через международный банк данных о сиквенированных последовательностях NCBI, с использованием программы Finch TV. Идентификация считалась успешной, если гомология неизвестной последовательности с последовательностями, размещенными в базе, составляла 97% и более (Практикум..., 2005; Advanced..., 2007).

Ферментативная активность растительного опада. Ферментативную активность измеряли фотометрически. В качестве субстрата использовали сахарозу (для инвертазы), ксилан (для ксиланазы), бесцветную лейкоформу тетраметилбензидина (для фенолоксидазы) (Schinner, von Mersi, 1990; Schinner, 1995).

2.3. Статистическая обработка результатов

Для определения достоверности различий в скорости деструкции, численности микромицетов и ферментативной активности применяли дисперсионный анализ, при необходимости исходные данные были трансформированы (применялась логарифмическая или арксин-трансформация).

Для оценки изменений в таксономической структуре сообщества грибов (метод посева и молекулярный фингерпринтинг) использовали непараметрическое многомерное шкалирование и дискриминантный анализ (Пузаченко, Кузнецов, 1998; Tiunov, Scheu, 2005). Для оценки достоверности изменения обилия грибных таксонов использовали U-критерий Мана-Уитни и критерий Краскела-Уоллеса.

Глава 3

ВЛИЯНИЕ ДОСТУПНОСТИ УГЛЕРОДА И АЗОТА НА ТЕМПЫ ДЕСТРУКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОПАДА

3.1. Экспериментальная площадка «Малинки»

Регулярное долговременное внесение сахарозы привело к замедлению темпов деструкции растительного опада (дисперсионный анализ, фактор «Внесение сахара»: $F=134,56$; $p<0,0001$). Наиболее значительно снизилась скорость деструкции осинового опада: внесение в почву сахарозы замедляло деструкцию осины в два раза по сравнению с контролем (рис. 1).

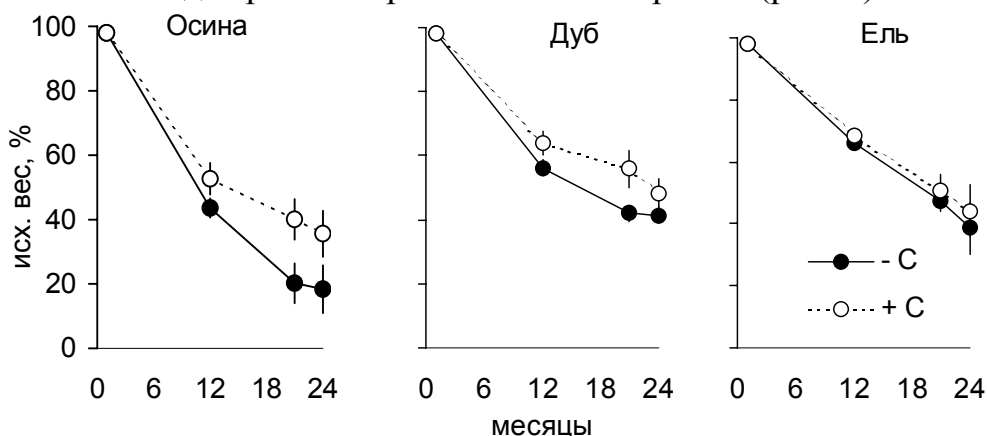


Рис. 1. Влияние внесения сахарозы на скорость деструкции растительного опада (- C - контроль; +C - добавление сахарозы). Вертикальные линии показывают стандартную ошибку средней; $n=6$.

3.2. Экспериментальная площадка «Черноголовка»

На экспериментальной площадке «Черноголовка», так же как и на площадке «Малинки», долговременное внесение сахарозы достоверно снижало темпы деструкции опада осины и ольхи (дисперсионный анализ, фактор «Внесение сахара»: $F=354,76$; $p<0,0001$; рис.2, А).

Внесение в почву легкодоступного азота в виде нитрата аммония по-разному влияло на скорость деструкции опада осины и ольхи (взаимодействие факторов «Вид опада» × «Внесение азота», после 15 месяцев деструкции: $F=13,83$; $p<0,001$; рис 2, В). Деструкция богатого азотом опада ольхи замедлялась, а деструкция бедного азотом опада осины в среднем ускорялась при внесении азота.

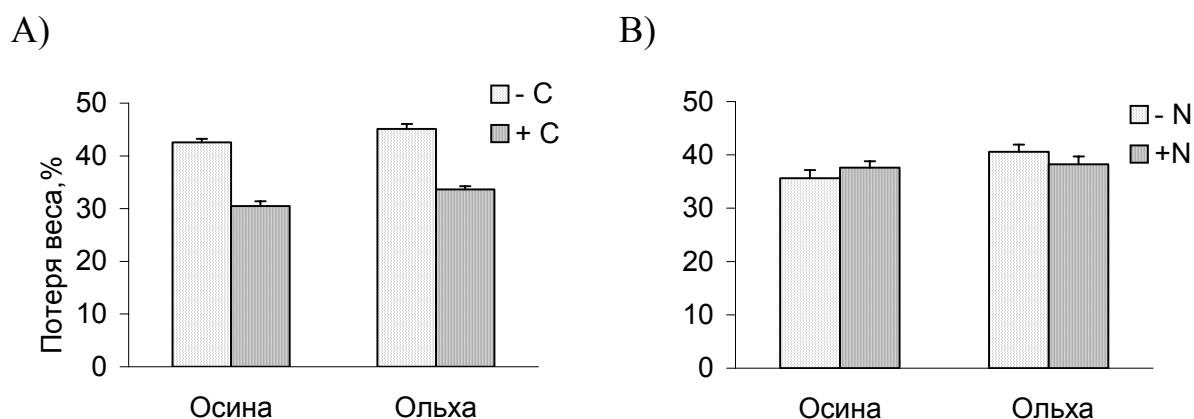


Рис. 2. Потеря веса (% от исходного веса) осинового и ольхового опада после 15 месяцев деструкции в зависимости от уровня доступности углерода (А) и азота (В). Вертикальные линии показывают стандартную ошибку средней, $n=24-30$; включены данные, как с подвижными, так и с неподвижными мешками.

Нарушение мицелиальной связи между минеральной почвой и опадом оказало достоверное влияние на скорость деструкции, но только во взаимодействии с факторами «Вид опада» и «Внесение азота» ($F=4,48$; $p=0,037$). Скорость деструкции богатого азотом опада ольхи не изменилась, а скорость деструкции бедного азотом опада осины существенно замедлилась (потеря веса в «неподвижных» мешках $37,5 \pm 2,0\%$, в «подвижных» мешках $32,9 \pm 2,3\%$ от исходного), но только в варианте без добавления азота (рис. 3).

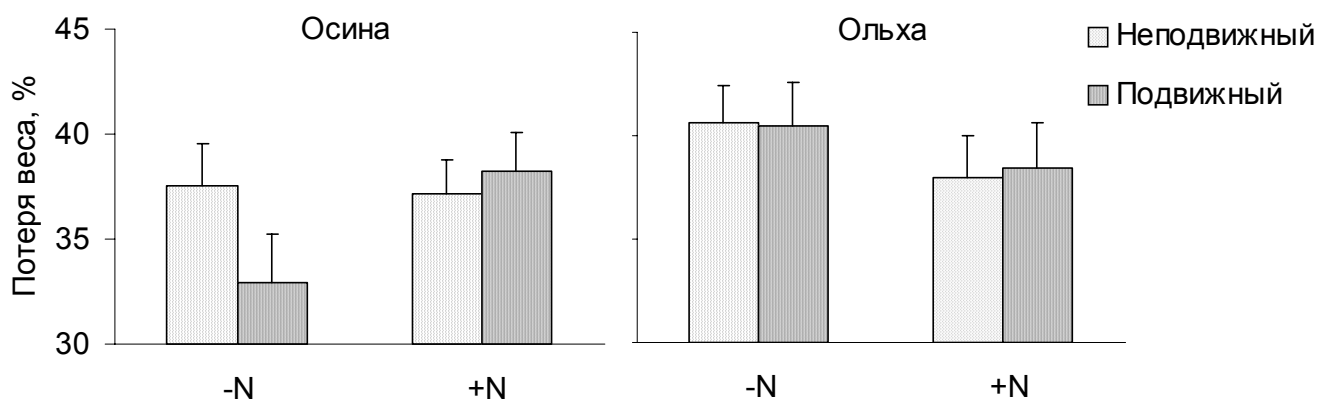


Рис. 3. Потеря веса (% от исходного веса) осинового и ольхового опада после 15 месяцев деструкции в зависимости от уровня доступности азота и нарушения мицелиальной связи между подстилкой и почвой. Вертикальные линии показывают стандартную ошибку средней, $n=17-18$; включены данные, как с внесением, так и без внесения углерода.

Глава 4

ВЛИЯНИЕ ДОСТУПНОСТИ УГЛЕРОДА И АЗОТА НА ОБИЛИЕ И СТРУКТУРУ СООБЩЕСТВА ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

4.1. Экспериментальная площадка «Малинки»

Внесение сахарозы увеличивало обилие (число КОЕ) микромицетов, выделяемых на среде Чапека (дисперсионный анализ, фактор «Внесение сахара»: $F=9,76$; $p<0,0001$) и сусло-агаре ($F=7,16$; $p=0,01$), однако не оказывало какого-либо заметного влияния на численность целлюлозолитических микромицетов, выделяемых на среде Гетчинсона ($F=0,05$; $p=0,82$; рис. 4). Для всех типов опада было отмечено увеличение численности микромицетов по мере деструкции опада, причем этот эффект был достоверен при использовании всех трех типов питательных сред.

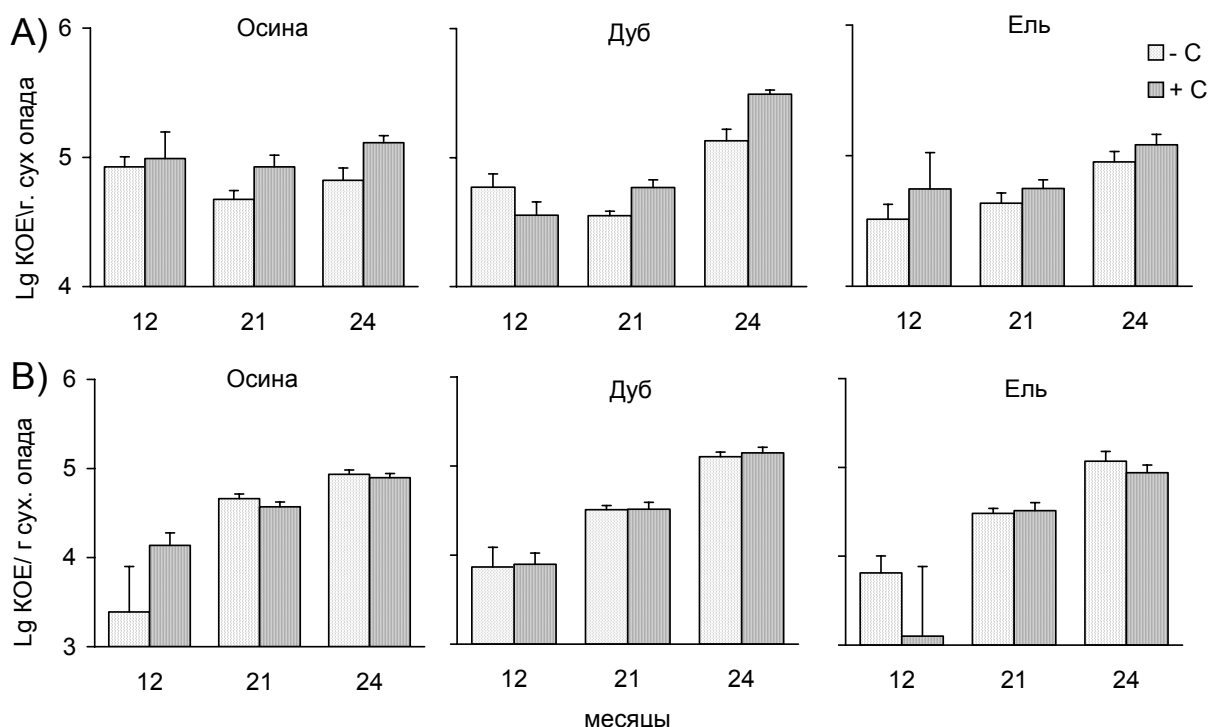


Рис. 4. Влияние доступности углерода на число КОЕ микромицетов осинового, дубового и елового опада, выделенных при использовании среды Чапека (А) и среды Гетчинсона (В). Вертикальные линии показывают стандартную ошибку средней, $n=8$.

Всего из трех исследованных видов опада выделено 102 вида микромицетов, принадлежащих 44 родам; 11 видов (принадлежащих к 6 родам) из них относятся к отделу Zygomycota, 91 вид (37 родов) к отделу Ascomycota. Кроме того, были выделены 2 формы светлоокрашенного и 5 форм темноокрашенного стерильного мицелия. Наибольшим видовым богатством отличались роды *Penicillium* (25 видов), *Acremonium* (7 видов), *Trichoderma* (7 видов), *Aspergillus* (4 вида) и *Paecilomyces* (4 вида), остальные роды микромицетов были представлены 1-3 видами.

Внесение сахарозы достоверно изменяло структуру сообществ

микромикетов в трех видах растительного опада после 21 и 24 месяцев деструкции, причем этот эффект был выражен на всех трех использованных питательных средах (дискриминантный анализ: $p < 0,001$). Наиболее четкие различия были зафиксированы при использовании среды Чапека (рис. 4).

Несмотря на значимые различия в структуре грибных сообществ в опаде осины, дуба и ели на разных стадиях деструкции, наблюдается ряд общих тенденций в перестройке комплекса микромикетов в ответ на внесение сахарозы (табл. 1). Относительное обилие темноокрашенных гифомицетов (формальная группа Dematiaceae) значительно повышалось. Увеличение их представленности происходило большей частью за счет наиболее обильных видов: *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Thysanophora penicillioides*. Кроме того, внесение доступного углерода во всех видах опада положительно сказывалось на численности некоторых представителей рода *Acremonium*, в частности *A. strictum* (в нашем эксперименте это был один из наиболее обильных представителей этого рода) и *A. chrysogenum*. Внесение сахарозы снижало обилие видов *Beauveria bassiana*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Fusarium sambucinum*, *Geomyces pannorum*, *Monochaetia karstenii*. Отрицательный эффект доступного углерода был отмечен и для относительного обилия представителей рода *Penicillium*.

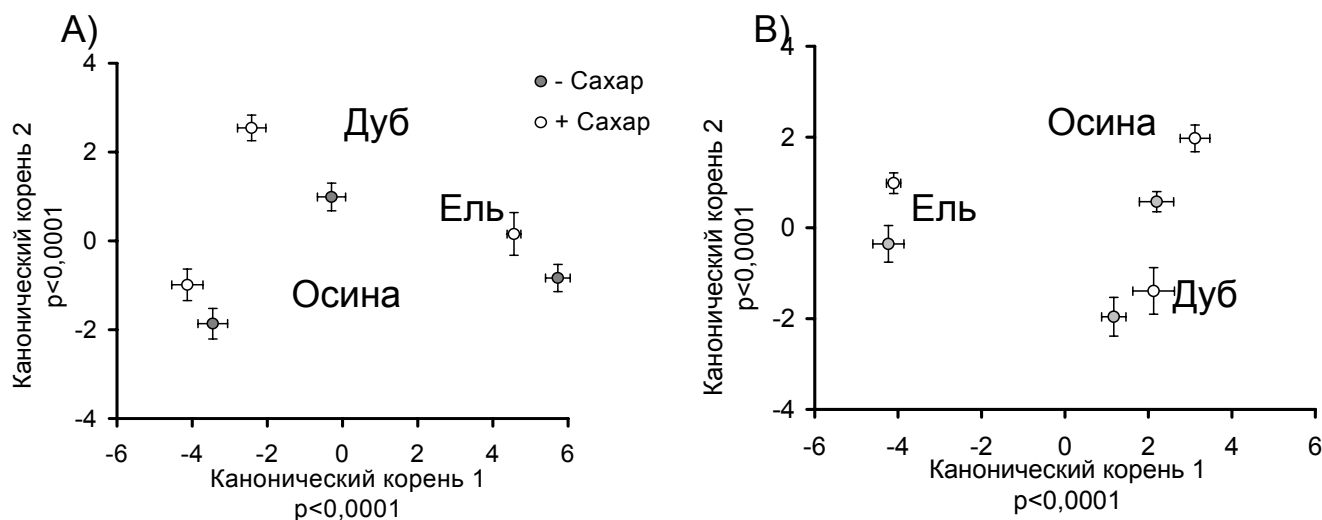


Рис. 5. Положение комплексов микромикетов, выделяемых на среде Чапека, в осях дискриминантного анализа. Точки представляют собой центроиды группы, линии показывают стандартную ошибку. Для каждого из канонических корней указан уровень значимости (А – после 21 месяца; В – после 24 месяцев), $n=8$.

Таблица 1. Обилие некоторых видов микромицетов, выделенных при использовании среды Чапека после 21 и 24 месяцев деструкции; в скобках показана стандартная ошибка, n=8

	21 месяц						24 месяца					
	Осина		Дуб		Ель		Осина		Дуб		Ель	
	- С	+ С	- С	+ С	- С	+ С	- С	+ С	- С	+ С	- С	+ С
Относительное обилие повышается при внесении сахарозы												
<i>Acremonium chrysogenum</i>											1,1(0,7)	2,0(1,7)
<i>Acremonium strictum</i>									0,7(0,4)	1,4(0,4)	1,3(0,8)	1,6(1,3)
<i>Alternaria alternata</i>	5,5(3,1)	5,8(1,9)		0,5(0,3)					0,7(0,5)	0,9(0,3)	0,3(0,2)	
<i>Aureobasidium pullulans</i>		0,7(0,5)	1,8(1,6)	1,3(0,9)	2,3(0,9)	3,5(1,3)			0,6(0,3)	1,7(0,6)	1,3(0,9)	4,1(1,3)*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2,5(1,7)	17,0(5,3)*	13,6(7,7)	14,5(7,2)	2,8(2,0)	0,2(0,2)*			2,9(1,6)	5,9(2,4)	3,9(2,7)	1,8(1,1)
<i>Cladosporium herbarum</i>	46,9(5,6)	56,2(9,0)	10,8(6,1)	22,8(10,3)	3,5(1,5)	12,5(3,6)	61,0(10,0)	65,0(10,2)	18,4(6,9)	41,2(4,1)*		
<i>Cephalotrichum nanum</i>	0,2(0,2)	0,3(0,3)					0,8(0,5)	16,7(9,0)	0,6(0,6)	2,1(1,0)	0,7(0,7)	4,0(1,7)*
<i>Thysanophora penicillioides</i>												1,7(1,5)
<i>Wardomyces inflatus</i>									-	8,0(3,5)**		
Относительное обилие снижается при внесении сахарозы												
<i>Beauveria bassiana</i>					4,3(3,5)	2,0(1,0)	0,7(0,7)	0,6(0,4)	0,7(0,5)	0,1(0,1)		
<i>Cylindrocarpon magnusianum</i>	2,9(1,5)	0,5(0,3)	7,5(3,4)	5,3(3,9)	3,3(1,0)	1,0(0,5)	0,7(0,4)	0,3(0,3)	6,5(1,6)	1,3(0,4)**	19,5(7,5)	5,5(2,4)*
<i>Fusarium sambucinum</i>											1,6(0,9)	1,0(0,5)
<i>Geomyces pannorum</i>	23,3(6,8)	13,7(10,1)	25,2(9,1)	27,1(6,6)	16,0(4,7)	24,2(4,1)			20,4(3,2)	9,3(1,4)	11,3(3,8)	9,6(1,4)
<i>Monochaetia karstenii</i>			1,6(1,6)	0,5(0,5)	0,8(0,8)	0,5(0,4)			0,2(0,2)	0,3(0,3)	1,6(0,9)	0,7(0,7)
<i>Paecilomyces carneus</i>	1,2(1,0)		10,1(5,4)	0,2(0,2)*	0,5(0,2)		1,4(0,8)	0,6(0,4)	4,7(2,1)	0,1(0,1)**	3,9(1,5)	2,0(1,2)
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>					4,7(3,1)	1,0(0,3)	0,5(0,5)	0,1(0,1)*	0,4(0,2)	0,1(0,1)		
<i>Penicillium glandicola</i>	1,4(1,0)	0,3(0,3)	9,3(6,3)	2,5(1,0)	0,3(0,3)		1,5(0,9)		2,7(1,7)	0,2(0,2)	1,0(0,5)	-*
<i>Penicillium janczewskii</i>	2,4(1,1)	-*	3,6(2,1)	3,3(1,5)	1,5(0,8)	0,6(0,5)			8,7(2,7)	1,2(0,4)*	1,1(0,7)	0,7(0,3)
<i>Penicillium simplicissimum</i>	0,5(0,5)	0,4(0,0)	1,9(1,0)	3,1(1,2)	3,8(0,0)	0,5(0,2)*	1,1(0,6)	0,1(0,1)	1,8(0,7)	1,2(0,5)		
Группы												
Penicillium	6,5(4,9)	1,2(1,2)	15,5(10,4)	10,4(4,8)	11,3(5,9)	2,6(1,6)*	3,1(1,9)	0,2(0,2)*	17,6(9,2)	3,3(1,6)	2,3(1,4)	0,8(0,4)
Dematiaceae	55,0(10,3)	79,8(16,6)*	31,3(18,6)	41,6(19,9)	54,8(15,5)	59,1(13,3)	80,8(16,7)	93,0(17,3)	42,4(14,0)	80,4(22,0)	44,4(18,9)	58,8(22,3)

Достоверность отличий между вариантами без и с внесением сахарозы: *p<0,01; ** p<0,001 (У-критерий Манна-Уитни)

Грибы, которые положительно реагировали на внесение сахарозы, относятся к группе «первичных колонизаторов опада». Микромицеты этой группы в качестве источника углерода (энергии) предпочитают простые, легкоразлагаемые соединения и по стратегии жизнедеятельности (питательные предпочтения, обильное спорообразование) могут быть отнесены к *r*-стратегам. Напротив, для многих грибов, которые снижали обилие при внесении сахарозы, отмечена высокая целлюлозолитическая (*C. magnusianum*, *G. pannorum*) и хитинолитическая (*B. bassiana*, *P. carneus*) активность (Garrett, 1951; Nilsson, 1973; Борисова, 1988; Osono, 2005; Domsch et al., 2007).

Кривые ранговых распределений показывают, что в условиях внесения сахарозы грибное сообщество становится менее разнообразным, за счет снижения обилия субдоминантных и минорных видов. Данный эффект был зафиксирован для сред Чапека и агаризованного сусла (рис. 5, пример для осинового опада, среда Чапека).

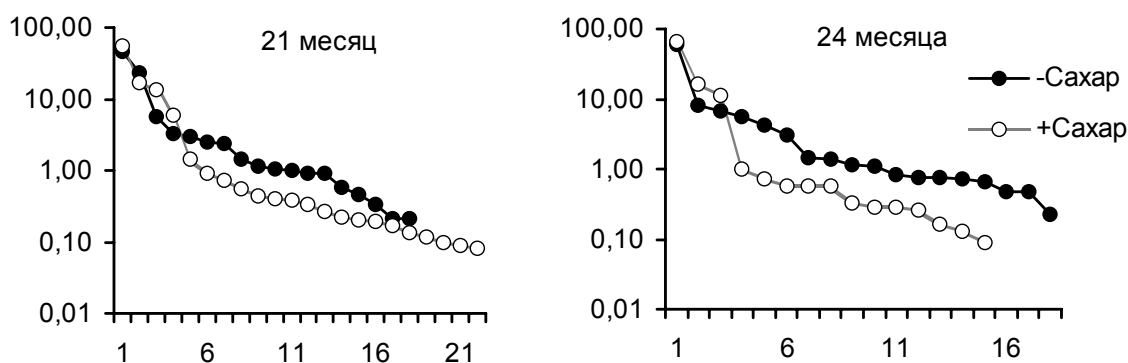


Рис. 6. Кривые рангового распределения сообществ микромицетов опада осины, выделенных при использовании среды Чапека после 21 месяца и после 24 месяцев деструкции; ось ординат – логарифмированная шкала видового обилия, ось абсцисс – ранжированная последовательность представителей грибного сообщества.

При использовании среды Чапека и агаризованного сусла, были отмечены общие закономерности в изменениях значения индексов Шеннона, Симпсона и выравненности видовых обилий грибных сообществ в зависимости от внесения доступного углерода. При повышении доступности углерода разнообразие (индекс Шеннона) снижалось за счет усиления доминирования наиболее обильных видов (понижение обратной величины индекса Симпсона и выравненности). При использовании среды Гетчинсона четкие тенденции не проявлялись.

Таким образом, наблюдалась перестройка комплексов микромицетов опада за счет увеличения численности доминантных первичных колонизаторов (в первую очередь темноокрашенных гифомицетов) при подавлении и снижении разнообразия других представителей микобиоты, способных к усвоению более труднодоступных органических соединений.

4.2. Экспериментальная площадка «Черноголовка»

Внесение углерода вызывало увеличению численности КОЕ микромицетов в ольховом опаде, в осиновом опаде достоверный эффект отсутствовал (дисперсионный анализ, взаимодействие факторов «Внесение сахара» и «Вид опада»: $F=5,78$; $p=0,0221$ для сусло-агара и $F=9,34$; $p=0,0045$ для среды Гетчинсона, рис. 7, А). Внесение азота повышало численность микромицетов, выделяемых на всех средах (фактор «Внесение азота»: $F=19,79$; $p<0,0001$ для среды Чапека; $F=4,68$ $p=0,0380$ для сусло-агара; $F=10,54$; $p=0,0027$ для среды Гетчинсона, Рис. 7, В).

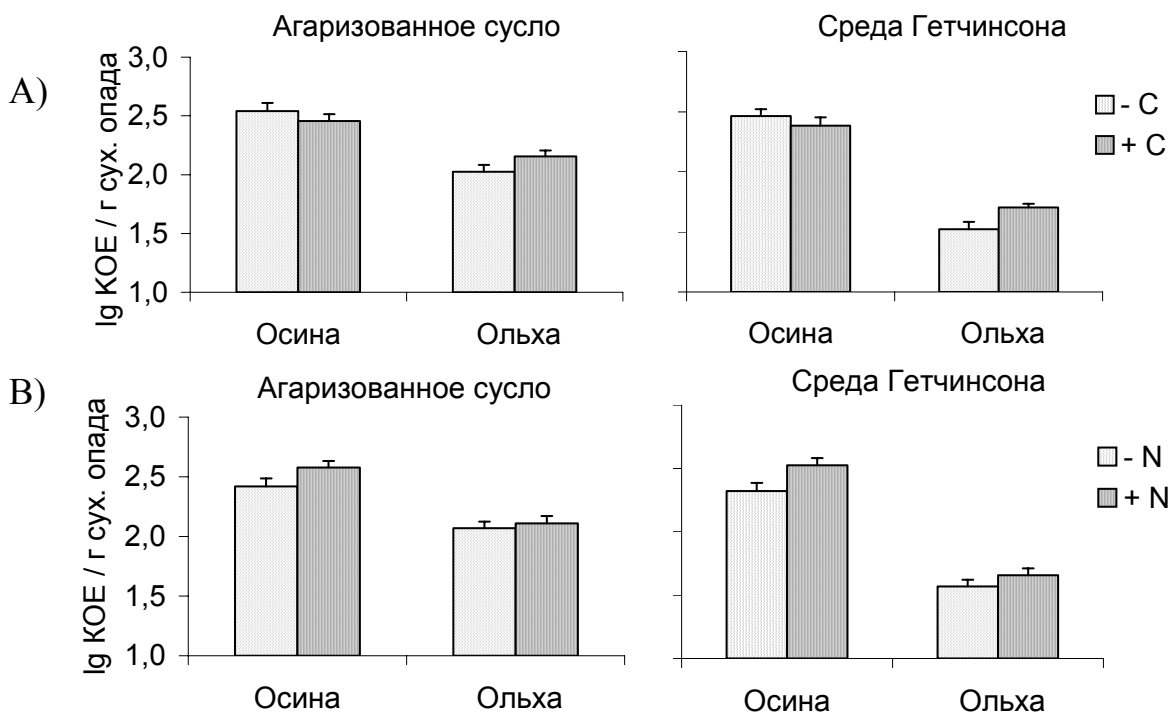


Рис.7. Влияние уровня доступности углерода (А) и азота (В) на число КОЕ микромицетов осиновом и ольховом опаде, выделяемых на агаризованном сусле и среде Гетчинсона. Вертикальные линии показывают стандартную ошибку средней, $n=16$, включены данные, как с «подвижным», так и с «неподвижным» опадом.

Разрыв мицелиальной связи между мешочками с опадом и нижележащими почвенными горизонтами приводил к снижению численности целлюлозолитических грибов (выделяемых на среде Гетчинсона). Причем этот эффект был отмечен только в осиновом опаде при естественном уровне доступности азота (взаимодействие факторов «Вид опада», «Доступность азота» и «Подвижность мешочков» было близко к достоверности: $F=3,26$, $p=0,080$). Число КОЕ микромицетов в «неподвижных» мешках составило 325 ± 60 [ст. ошибка] $\text{КОЕ} \times 10^3$, а в «подвижных» - 168 ± 36 $\text{КОЕ} \times 10^3$. Этот эффект не зависел от внесения сахара.

Всего из опада при использовании трех типов питательных сред выделено 111 видов микромицетов. Из них 12 видов (принадлежащих к 5 родам) относятся к отделу Zygomycota, 99 видов (41 род) к отделу

Ascomycota. Кроме того, из растительного опада были выделены 1 форма светлоокрашенного и 2 формы темноокрашенного стерильного мицелия.

Наибольшим видовым богатством отличались роды *Penicillium* (25 видов), *Trichoderma* (8 видов), *Acremonium* (7 видов), *Paecilomyces* (5 видов), *Phoma* (5 видов), *Aspergillus* (4 вида) и *Cladosporium* (4 вида), остальные роды микромицетов были представлены 1-3 видами.

Внесение доступного углерода оказало достоверное влияние на структуру сообщества грибов в осиновом опаде (дискриминантный анализ, фактор «Внесение сахара», $p=0,0054$; сусло-агар). На видовую структуру целлюлозолитического блока существенное влияние оказала доступность азота (дискриминантный анализ, фактор «Внесение азота», $p=0,0072$; среда Гетчинсона). Структура сообществ микромицетов опада, выделяемых как на агаризованном сусле, так и на среде Гетчинсона зависела от уровня доступности и углерода, и азота (дискриминантный анализ: $p<0,05$ для сусло-агара и среды Гетчинсона, рис. 8, пример для среды Гетчинсона). Для ольхового опада влияние внесения углерода и азота на структуру комплекса микромицетов было лишь близко к достоверному (дискриминантный анализ: $p<0,10$; среда Чапека).

При внесении соединений азота и углерода отмечены следующие тенденции в изменении видовой структуры сообществ грибов осинового и ольхового опада. Как и на первой экспериментальной площадке «Малинки», внесение сахара привело к увеличению относительного обилия первичных колонизаторов лиственного опада, а именно представителей формального семейства Dematiaceae (виды родов *Cladosporium*, *Cephalotrichum* и др.), видов рода *Acremonium*. В то же время относительное обилие более активных деструкторов *Chaetomium globosum*, *Monochaetia karstenii*, *Geomyces pannorum* и, кроме того, серой формы стерильного мицелия (показавшего при росте в культуре высокую целлюлозолитическую активность) не увеличивалось, а в ряде случаев оно даже снижалось. Негативное воздействие внесения сахарозы на численность микроорганизмов деструкторов частично компенсировалось дополнительным внесением нитрата аммония в почву (например, для *Geomyces pannorum* и стерильного мицелия, табл. 2).

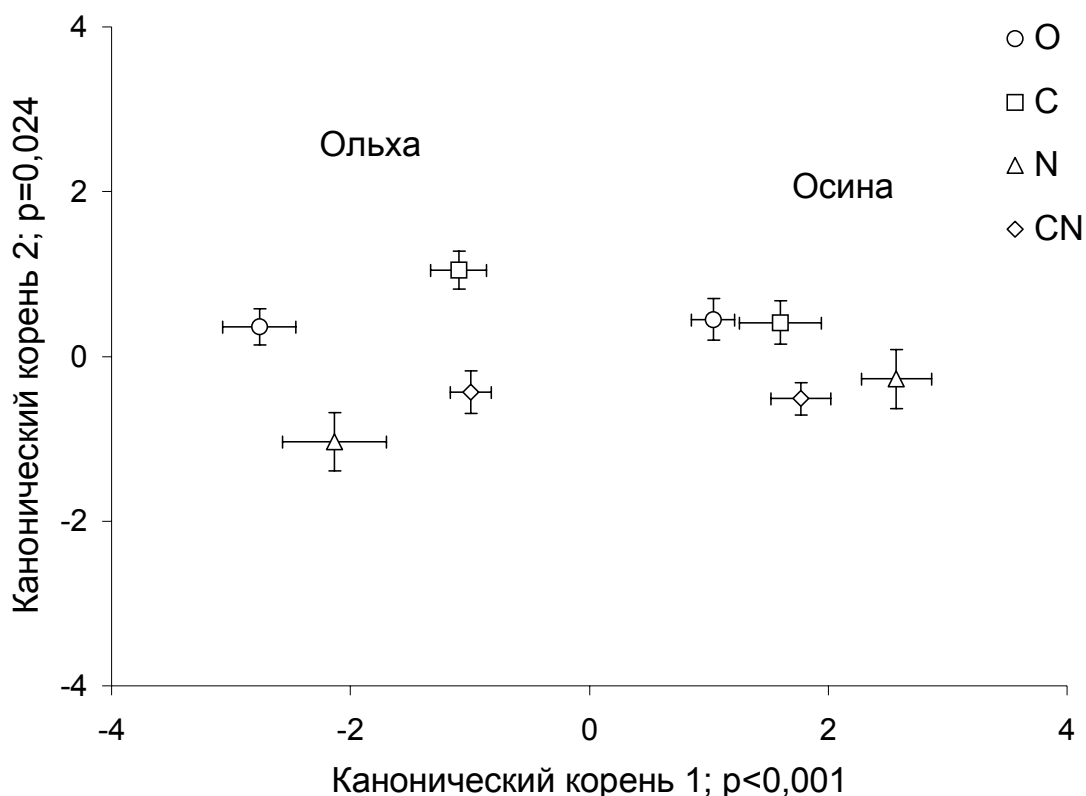


Рис 8. Положение комплексов микромицетов осинового и ольхового опада, выделяемых на среде Гетчинсона после 15 месяцев деструкции, в осях дискриминантного анализа. Точки представляют собой центроиды группы, линии показывают стандартную ошибку. Для каждого из канонических корней указан уровень значимости, $n=8$.

Внесение углерода по-разному влияло на разнообразие грибов-целлюлозолитиков в ольховом и осиновом опаде (среда Гетчинсона). В бедном азотом осиновом опаде их разнообразие снижалось при внесении сахара (значение индекса Шеннона по сравнению с контролем снижалось с 2,42 до 2,12), дополнительное поступление азота несколько повышало эти значения (индекс Шеннона в варианте опыта с одновременным внесением азота и углерода – 2,27). В богатом азотом опаде ольхи внесение сахара не приводило к снижению разнообразия целлюлозолитических микромицетов (контроль – 2,59, вариант с внесением сахара – 2,66).

Нарушение мицелиальной связи между опадом и почвой приводило к изменениям в структуре сообществ микромицетов, выделяемых на среде Гетчинсона. «Подвижка» мешочков с опадом вызывала перестройку только в осиновом опаде в варианте опыта без внесения азота (дискриминантный анализ: $p<0,04$). При «подвижке» мешочков с опадом увеличивалось обилие видов *Cladosporium cladosporioides*, *Gliocladium virens*, *Aspergillus flavus*, *Clonostachys candelabrum*. При этом виды *Acremonium strictum*, *A. murorum*, *Alternaria alternata*, *Chaetomium globosum*, *Chaetomium cochlioides*, *Trichothecium roseum*, *Penicillium variable* и стерильный темноокрашенный мицелий снижали свое обилие.

Таблица 2. Видовое обилие некоторых видов микромицетов, выделенных при использовании среды Гетчинсона после 15 месяцев деструкции; в скобках показана стандартная ошибка, n=8

	Осина				Ольха				
	О	С	Н	CN	О	С	Н	CN	
<i>Acremonium strictum</i>	21,5(6,9)	31,4(12,6)	7,1(2,7)	11,6(4,5)	1,5(1,2)	5,1(3,4)	5,4(3,4)	2,7(1,4)	*
<i>Acrostalagmus luteoalbus</i>		0,2(0,2)			1,5(1,1)				
<i>Beauveria bassiana</i>			0,3(0,3)				0,1(0,1)	0,1(0,1)	
<i>Cephalotrichum nanum</i>		0,2(0,2)	0,1(0,1)			0,1(0,1)			
<i>Chaetomium globosum</i>	2,6(1,7)	0,2(0,2)	0,6(0,6)		0,1(0,1)	0,9(0,5)		0,2(0,2)	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	12,1(7,4)	21,9(10,0)	28,7(10,3)	20,6(6,2)	6,9(3,9)	28,8(5,3)	15,1(5,8)	40,8(9,5)	**
<i>Cladosporium macrocarpum</i>						1,0(0,8)			(*)
<i>Geomyces pannorum</i>	2,6(2,1)	2,9(1,1)	5,3(3,2)	3,6(1,6)	4,3(2,3)	2,8(1,4)	23,3(10,7)	17,3(9,9)	(*)
<i>Lecanicillium muscarium</i>	0,2(0,2)		0,1(0,1)		0,4(0,3)				(*)
<i>Monochaetia karstenii</i>	0,4(0,4)				0,5(0,5)				
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>				2,2(1,9)	*			0,4(0,4)	
<i>Penicillium chrysogenum</i>			0,3(0,3)	1,8(0,8)	*	0,3(0,3)	0,2(0,2)	0,1(0,1)	
<i>Phoma eupyrena</i>	0,6(0,6)	10,9(7,1)	5,7(2,8)	4,2(1,6)	(*)	3,4(2,5)	0,2(0,2)	0,4(0,3)	
<i>Phoma pomorum</i>			0,1(0,1)	6,9(3,8)	*				
<i>Trichoderma hamatum</i>			0,1(0,1)		0,3(0,3)		0,9(0,6)		
<i>Wardomyces inflatus</i>						0,8(0,5)	0,7(0,7)		
Стерильный мицелий, сероокрашенный	16,4(7,6)	7,2(5,7)	21,5(10,3)	23,2(10,7)	0,1(0,1)				(*)

Достоверные отличия в пределах одного вида опада: ** p<0,001; * p<0,01; (*) p<0,1 (критерий Краскела–Уоллиса)

Глава 5

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ В СТРУКТУРЕ СООБЩЕСТВ ГРИБОВ

(экспериментальная площадка «Черноголовка»)

Для анализа изменений в структуре сообществ грибов в ответ на долговременное внесение соединений азота и на нарушение мицелиальной связи между подстилкой и почвой использовался молекулярно-генетический подход (выделение суммарной ДНК из опада, амплификация со специфичными грибными праймерами и электрофоретическое разделение полученных ампликонов в денатурирующем градиентном геле, DGGE). Полученные генетические паттерны позволяют судить об отличиях в структуре грибных сообществ в различных вариантах опыта (рис. 9).

Анализ генетической структуры сообщества грибов, основанный, как на положении полос, так и на их интенсивности, показал, что как увеличение доступности углерода и азота, так и нарушение мицелиальной связи приводило к значительным изменениям в видовой структуре комплексов грибов опада осины (дискриминантный анализ: $p < 0,001$) и ольхи ($p < 0,0001$). Необходимо отметить, что изменения в ольховом опаде при подвижке мешочков были вызваны элиминацией некоторых видов, в то время как соотношения между остальными представителями оставались без видимых изменений. В осиновом же опаде наблюдаются значительные количественные и качественные перегруппировки.

В нашем эксперименте нарушение мицелиальной связи между подстилкой и почвой оказало влияние на скорость деструкции только в комбинации с фактором «Внесение азота». Поэтому мы провели анализ видовой принадлежности отдельных ампликонов между вариантами опыта «Контроль-неподвижный», «Азот-неподвижный», «Контроль-подвижный», «Азот-подвижный».

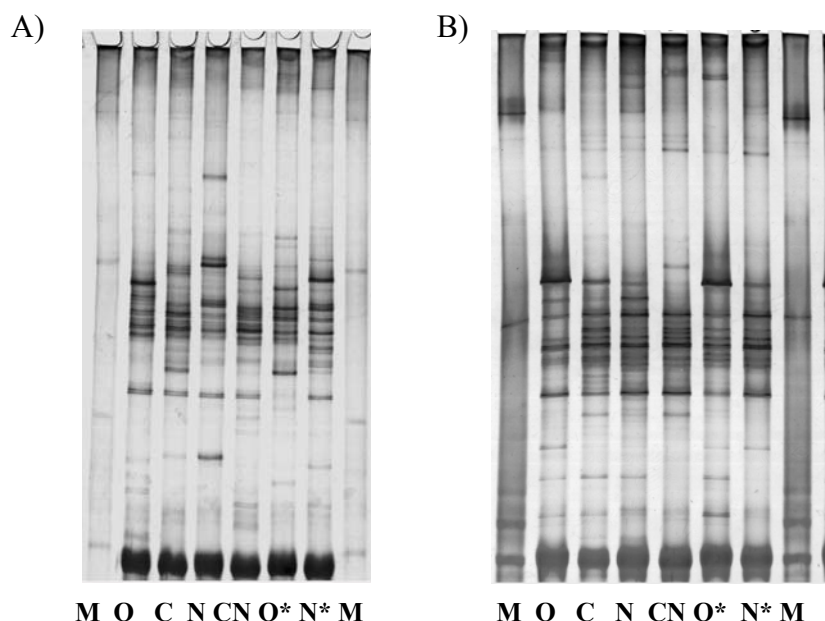


Рис. 9. Изменения в структуре грибных сообществ опада осины (А) и ольхи (В), показанные при электрофоретическом разделении фрагментов 18S рДНК в денатурирующем градиентном геле (**М** - маркер, **О** – вариант без добавления углерода и азота, **С** – вариант с добавлением углерода, **Н** – вариант с добавлением азота, **CN** – одновременное добавление углерода и азота, * показывают вариант опыта с нарушением мицелиальной связи между подстилкой и почвой). Показана одна из трех повторностей для каждого вида опада.

Анализ последовательностей позволил выявить некоторые виды, вовлеченные в перестройку сообществ грибов опада осины в условиях нарушения мицелиальной связи. Всего для 36 изолятов было определено 28 уникальных последовательностей грибных таксонов (некоторые из полос являлись комбинацией нескольких таксонов). Три изолята были определены до видового, семнадцать - до родового ранга, для остальных достоверно удалось определить только более высокое таксономическое положение.

Выявлены следующие тенденции: (1) исчезновение высших базидиальных грибов в «подвижном» варианте опыта, а именно *Mycena* sp. и вида из семейства Tricholomataceae; (2) отмечена приуроченность определенных видов к различному уровню доступности азота: естественный уровень доступности азота благоприятствовал развитию *Niesslia exillis*, *Lanspora coronata*; (3) «подвижка» мешочков с опадом вела к исчезновению или уменьшению обилия представителей родов *Phoma*, *Sistotrema*, *Fusarium*, причем интенсивность полос, характерных для этих видов, снижалась при естественном уровне доступности азота; (4) при «подвижке» появлялись виды *Pestalotiopsis* sp. и *Pleospora* sp., как правило, независимо от уровня доступности азота.

Глава 6

ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

(экспериментальная площадка «Черноголовка»)

Долговременное экспериментальное повышение доступности углерода вызывало увеличение уровня **инвертазной** активности в опаде осины, причем дополнительное внесение соединений азота усиливало этот эффект. В ольховом опаде достоверное повышение активности инвертазы было отмечено только при одновременном внесении азота и углерода (дисперсионный анализ «Вид опада» × «Внесение сахара» × «Внесение азота» $F=22,50$; $p<0,0001$; рис. 10, А). Увеличение доступности азота вызывало увеличение уровня инвертазной активности только в осиновом опаде (взаимодействие «Вид опада» и «Внесение азота», $F=12,02$; $p=0,0015$). Нарушение мицелиальной связи между мешочками с опадом и почвой снижало инвертазную активность в осиновом опаде, этот эффект был маргинально достоверен ($F=3,88$; $p=0,0576$).

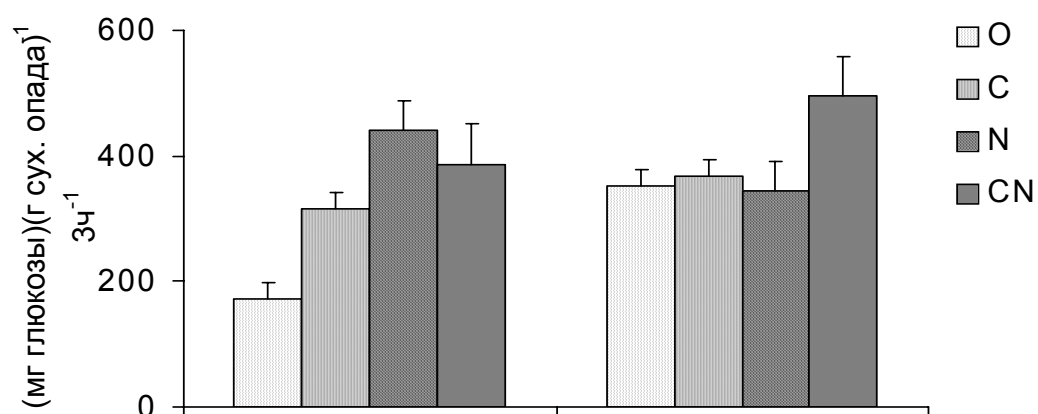
Внесение легкодоступного углерода приводило к снижению уровня **ксиланазной** активности в ольховом опаде ($F=35,70$; $p<0,0001$). Негативное влияние сахарозы на ксиланазную активность в осиновом опаде частично компенсировалось при повышении доступности азота. «Подвижка» мешочков вызывала значительное снижение ксиланазной активности растительного опада ($F=22,80$; $p<0,0001$). Этот эффект был одинаков в обоих видах опада и не зависел ни от уровня доступности азота, ни углерода.

Повышение доступности углерода оказало достоверное влияние на уровень **фенолоксидазной** активности опада во взаимодействии с фактором «Внесение азота» - добавление только лишь сахарозы снижало активность фенолоксидазы, в то время как одновременное внесение нитрата аммония и сахарозы приводило к значительному увеличению уровня ферментативной активности ($F=20,20$; $p<0,0001$). Этот эффект наиболее ярко проявлялся в осиновом опаде (рис. 10, С).

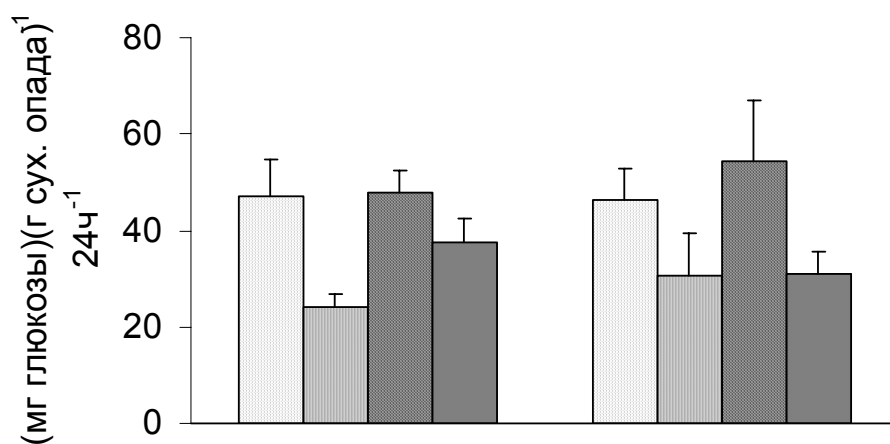
Нарушение мицелиальной связи между опадом и почвой не приводило к изменению уровня фенолоксидазной активности осинового опада ни отдельно, ни в комбинации с другими факторам.

Таким образом, повышение уровня доступности углерода влекло за собой снижение активности ферментов, нацеленных на деструкцию лигнина и гемицеллюлозы (т.е. активность *К*-стратегов), в то время как ферментативная активность почвенных микроорганизмов, принимающих участие в разложении простых углеводных соединений (*г*-стратеги) имела тенденцию к повышению (Berg, Laskowski, 2006). Компенсаторный эффект от внесения азота показывает, что при внесении сахара активность *К*-стратегов была лимитирована по азоту.

A)



B)



C)

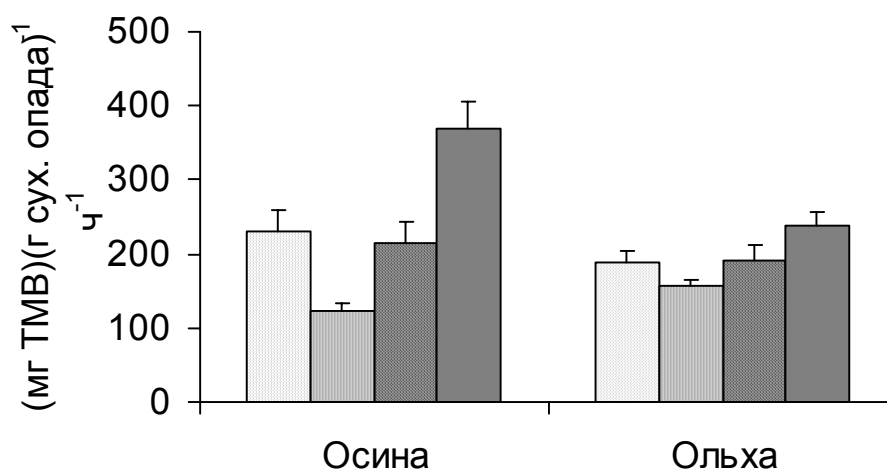


Рис.10. Уровень инвертазной (A), ксиланазной (B) и фенолоксидазной (C) активности растительного опада в зависимости от внесения соединений углерода и азота. Вертикальные линии показывают стандартную ошибку средней, n=8.

Глава 7

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Внесение доступного углерода в обоих полевых экспериментах привело к заметному замедлению темпов деструкции растительного опада. Снижение темпов разложения сопровождалось увеличением численности культивируемых микромицетов и значительными перестройками структуры сообщества грибов, показанными как при помощи традиционных микробиологических, так и молекулярных методов. Внесение углерода ведет к повышению активности и обилия первичных колонизаторов растительного опада (*r*-стратегов) при подавлении видов, способных к деградации трудноразлагаемых компонентов органического вещества (*K*-стратегов). Таким образом, наши данные дают экспериментальное подтверждение гипотезы, что замедление темпов деструкции при увеличении доступности углерода, скорее всего, связано с конкурентными взаимоотношениями между различными функциональными группами микроорганизмов (Fontaine et al., 2003). Внесение простых органических соединений ведет к активации быстрорастущих *r*-стратегов, а не медленно развивающихся *K*-стратегов, ответственных за деструкцию устойчивых компонентов органического вещества (Fontaine et al., 2003; Hamer, Marschner, 2005; Blagodatskaya et al., 2007). При интенсивном росте *r*-стратегов доступные биогенные элементы (в первую очередь азот) оказываются связанными в микробной биомассе, и их доступность для *K*-стратегов снижается, это ведет к подавлению их активности и, следовательно, замедлению темпов разложения (Fontaine et al., 2003; Magill, Aber, 2000; Hobbie, 2005).

Тем не менее, в ряде случаев, несмотря на снижение активности ферментов, характерных для *K*-стратегов (ксилаза, фенолоксидаза), общее и относительное обилие грибов, способных к усвоению труднодоступного субстрата, снижалось не всегда. Таким образом, вторым возможным механизмом, вызывающим снижение темпов деструкции, могло быть предпочтительное потребление микроорганизмами легкодоступного субстрата (*'preferential substrate utilization'*: Kuzyakov, 2000; Kuzyakov, Bol, 2006; Blagodatskaya, Kuzyakov, 2008).

Транспорт питательных элементов гифами грибов из минеральной почвы в растительный опад является важным механизмом регуляции скорости деструкции органического вещества на поверхности почвы. Нарушение мицелиальной связи между растительным опадом и почвой вело к замедлению разложения бедных азотом растительных остатков. Снижение темпов деструкции сопровождалось подавлением целлюлозолитиков в опаде - было отмечено уменьшение общего обилия целлюлозолитических микромицетов, снижение относительного видового обилия активных целлюлозолитиков (например, представители родов *Chaetomium*, *Phoma* и др.) и снижение уровня ксиланазной активности.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальное увеличение доступности углерода привело к замедлению потери веса опада на 7–33% в зависимости от вида опада и срока деструкции. Влияние доступности азота на темпы деструкции было выражено слабее и зависело от содержания азота в растительных остатках.
2. Увеличение доступности как углерода, так и азота повышало обилие (число КОЕ) сапротрофных микроскопических грибов в растительном опаде (до 58%) в зависимости от вида опада и стадии деструкции.
3. Традиционными микробиологическими и молекулярно-генетическими методами показано, что внесение углерода вызывало значительные перестройки в структуре сообщества почвенных грибов в сторону доминирования первичных колонизаторов (*r*-стратегов) и подавления активности грибов-целлюлозолитиков (*K*-стратегов). Увеличение доступности азота частично компенсировало этот эффект.
4. Внесение сахарозы вызывало повышение уровня инвертазной активности, однако снижало фенолоксидазную и ксиланазную активность. Это также указывает на подавление активности грибов, способных к деструкции соединений лигно-целлюлозного комплекса.
5. Перенос азота гифами грибов из минеральной почвы в растительные остатки регулирует скорость деструкции бедных азотом видов растительного опада. Нарушение мицелиальной связи между опадом и минеральной почвой сопровождалось снижением, как обилия, так и физиологической активности грибов целлюлозолитического блока. Механизмы наблюдаемого феномена остаются пока еще не до конца ясными, но вероятно включают в себя биотические отношения между различными функциональными группами почвенных организмов.

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность научным руководителям д.б.н. Тиуну А.В. и к.б.н. Александровой А.В. за неоценимую поддержку и внимание на всех этапах работы; проф. д.б.н. Сидоровой И.И. за ценные советы и помощь в обсуждении работы; сотрудникам кафедры микробиологии МГУ д.б.н. Семенову А.М. и Куненковой Н.А. за помощь в освоении молекулярно-генетических методов; проф. Э. Канделер, М. Эспана и остальным сотрудникам группы почвенной биологии института Почвоведения университета Хохенхайм за поддержку в проведении молекулярно-генетических и биохимических анализов и за ценные советы и замечания в обсуждении работы. Выражаю глубокую признательность всему коллективу кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ. Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 07-04-00698а, 05-04-48429а), программы "Научные школы" (НШ № 4680.2006.4, НШ № 4835.2006.4, НШ № 5189.2008.4), программы президиума РАН

«Биоразнообразие и динамика генофондов» и фонда академических обменов «Erasmus Mundus».

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в ведущих рецензируемых журналах

1. **Чигинева Н.И.**, Александрова А.В., Сидорова И.И., Тиунов А.В. Влияние легкодоступного углерода на состав сообщества микромицетов и скорость деструкции растительного опада в почве. // Микология и фитопатология. - 2007. - Т. 40. – Вып. 5. - С. 428-435.
2. **Чигинева Н.И.**, Александрова А.В., Сидорова И.И., Тиунов А.В. Таксономическая структура сообществ микромицетов растительного опада при разных уровнях доступности углерода // Микология и фитопатология. - 2008. - Т. 42. – Вып. 6. - С. 541-551.
3. **Chigineva N.I.**, Aleksandrova A.V., Tiunov A.V. The addition of labile carbon alters litter fungal communities and decreases litter decomposition rates // Applied Soil Ecology (in print).

Материалы и тезисы конференций

4. **Чигинева Н.И.** Влияние доступности источника углерода на численность и видовой состав микромицетов на разных типах опада / Материалы I(IX) Международной конференции молодых ботаников. - Санкт-Петербург, 2006. - С.303.
5. **Chigineva N.I.**, Aleksandrova A.V., Tiunov A.V. Labile carbon affects community structure of soil fungi and decomposition rates of three leaf litter types / Abstract of “Forest soil science: results, problems, prospects”. - Syktyvkar, 2007. - P.73-74.
6. **Chigineva N.I.**, Aleksandrova A.V., Tiunov A.V. The effect of labile carbon addition on microfungal community and litter decomposition / Abstract of “XV Congress of European Mycologists”. - St.Petersburg, 2007. - P.70.
7. **Chigineva N.I.** The effect of labile carbon and nitrogen addition on the functional activity of soil microorganisms / Abstract of “Erasmus Mundus External Cooperation Window – 2008”. - Stuttgart, Germany, 2008. - P. 48.
8. **Chigineva N.I.** The effect of labile carbon and nitrogen on the taxonomic structure of microfungal communities / Abstracts of “Erasmus Mundus External Cooperation Window – 2009”. - Stuttgart, Germany, 2009. – P. 23.
9. **Чигинева Н.И.**, Александрова А.В., Тиунов А.В. Влияние доступности соединений углерода и азота на таксономическую и функциональную структуру грибных сообществ и скорость деструкции растительного опада / Материалы междисциплинарного микологического форума. - Москва, 2009.
10. Озерская С.М., Кочкина Г.А., **Чигинева Н.И.**, Иванушкина Н.Е. Разнообразие грибов в генетическом банке / Материалы междисциплинарного микологического форума. - Москва, 2009.