

**Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города
Москвы «Школа № 1467»**

**ГРИБНАЯ СУКЦЕССИЯ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ
ДУБОВОГО, КЛЕНОВОГО И ЛИСТВЕННИЧНОГО
ОПАДОВ**

Автор работы:
10 Б класс
ГБОУ Школа № 1467
Гречина Виктория Борисовна

Руководитель:
учитель биологии и химии
ГБОУ Школа № 1467
Рудиченко Елена Ивановна
Консультант:
младший научный сотрудник
лаборатории Почвенной микробиологии
кафедры Биологии почв факультета Почвоведения МГУ
Якушев Андрей Владимирович

г. Москва, 2020 г.

Оглавление

Введение	2
Описание эксперимента.....	4
Результаты и обсуждение.....	5
Выводы.....	8
Список литературы.....	9

Введение

Почва является ключевым компонентом наземных экосистем [2]. В ходе проведения почвенно-экологического мониторинга важно знать не только степень загрязнения почв, эродированности или уплотнённости, но и состояние почвенной микробиоты - ключевого компонента почвы, ответственного за восстановление антропогенно-нарушенных почв. В отличие от физических и химических показателей для микробиологических показателей почв не разработаны общепринятые методы мониторингового анализа [1]. Поэтому остаётся актуальной проблема разработки инновационных методов и методик экологического мониторинга микробного сообщества почв.

Целью нашего исследования было изучить возможность применения модернизированного устаревшего метода почвенной микробиологии - пластинок обрастания Росси-Холодного [3,4,5] для инновационного экологического мониторинга микробного сообщества городских почв. Для того чтобы проверить, как работает метод, необходимо провести исследование микробного сообщества почв в динамике. Для этого была выбрана почвенная подстилка — поверхностный горизонт почвы, состоящий из органических остатков (мортмассы): листового опада и других остатков растений, экскрементов и трупов беспозвоночных животных. Подстилка является местообитанием огромного числа организмов (самый густонаселенный почвенный горизонт), обеспечивает образование гумуса, защищает почву от размыва и механического уплотнения, регулирует водно-воздушный режим почв, концентрирует элементы минерального питания растений. Толщина подстилки составляет в среднем от 5 до 20 см [2]. От её состояния во многом зависит состояние всей почвы, по ней можно проводить экологический мониторинг.

Антропогенные нарушения в наземных экосистемах вызывают изменения в подстилке: в её массе, толщине и плотности, запасе питательных веществ. Наиболее толстые подстилки встречаются в заболоченных почвах и почвах бореальных лесов, где скорость разложения низкая. Самые тонкие лесные подстилки обычно встречаются во влажных тропических лесах, где

скорость разложения высока. Значение ботанического состава опада для скорости его разложения и обилия грибов (основных деструкторов растительных остатков) не до конца известно [1]. Например, дубовый опад содержит дубильные вещества. Дубильные вещества или танины - высокомолекулярные природные фенольные соединения, производные пирогаллола, пирокатехина, флороглюцина, имеющие молекулярную массу от 1000 до 20 000 а.е.м. Они обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами, препятствуют гниению растительных остатков, защищают растение от фитопатогенных микроорганизмов. Хвоя лиственницы содержит микростатические и микробоцидные вещества, замедляющие скорость её разложения: смоляные кислоты, бициклические спирты лабданового ряда, дитерпеновые соединения, полифенолы, лигнаны, бензолкарбоновые кислоты.

На основании анализа литературы [1, 2] мы можем сформулировать нашу **рабочую гипотезу** о том, что влияние биоразлагаемости опада на скорость его разложения и обилие грибов в нем зависит от степени его разложенности.

Задачи исследования: 1) поставить модельный лабораторный эксперимент по изучению почвенной микробной сукцессии; 2) изучить изменение длины грибного мицелия в динамике; 3) исследовать изменение качественного состава микроорганизмов по ходу микробной сукцессии; 4) сделать заключение о возможности применения метода в экологическом мониторинге почв.

Описание эксперимента

Для выполнения поставленных задач был проведён модельный эксперимент в условиях лабораторных почвенных микрокосмов по инкубации листового опада деревьев. В парковой зоне на территории МГУ имени М.В. Ломоносова на Воробьёвых горах в г. Москве одновременно в середине октября 2020 года собрали и затем высушили свежесобраный лиственный опад клена остролистного (*Acer platanoides*), дуба канадского (*Quercus rubra*), лиственницы европейской (*Larix decidua*). Данные виды деревьев были выбраны в качестве объектов исследования как распространённые и используемые в озеленении в г. Москве. Кроме того, опады этих деревьев отличаются по биодоступности для микробного разложения. Дубовый опад содержит дубильные вещества, обладающие бактерицидными и фунгицидными свойствами, препятствующие гниению растительных остатков. Хвоя лиственницы содержит микростатические и микробоцидные вещества, замедляющие скорость её разложения: смоляные кислоты, бициклические спирты лабданового ряда, дитерпеновые соединения, полифенолы, лигнаны, бензолкарбоновые кислоты. Кленовый опад не содержит микробоподавляющих веществ.

Методы исследования. Ежемесячно измерялась на весах масса абсолютно сухого опада после высушивания при 105° С в сушильном шкафу.

Пластинки обрастания (покровные стекла 18 на 18 мм) закладывались по 4 штуки в пластиковые сосуды, содержащие 10 г (в пересчете на абс. сух. вещество) реувлажненного опада (по 10 баночек на опад каждого вида деревьев), и инкубировались 3 месяца при температуре 23-25° С и постоянной весовой влажности 200%. Окраска микроорганизмов проводилась прижизненно флуоресцентным красителем SYBR Green I, селективно окрашивающим в клетках нуклеиновые кислоты. Обилие грибов на пластинках (мкм гиф/см² стекла) подсчитывали каждые 7 дней в программе «ScorePhoto» по сделанным в случайном порядке фотографиям, полученным в ходе флуоресцентной микроскопии на микроскопе «Биомед 6 пр. Люм» (объектив 40^x) на цифровую камеру «DCM-510» при окраске микроорганизмов SYBR Green I (рис.1) и в ходе безартефактной микроскопии в свете по Келеру. Модернизация методики [6], таким образом, включала в себя: 1. использование покровных, а не предметных стекол; 2. динамическое наблюдение; 3. прижизненное окрашивание селективным флуоресцентным красителем; 4. отсутствие фиксации и отмывки стекла перед микроскопией, что позволяло сохранить почвенный раствор и наблюдать не адгезированные микроорганизмы.

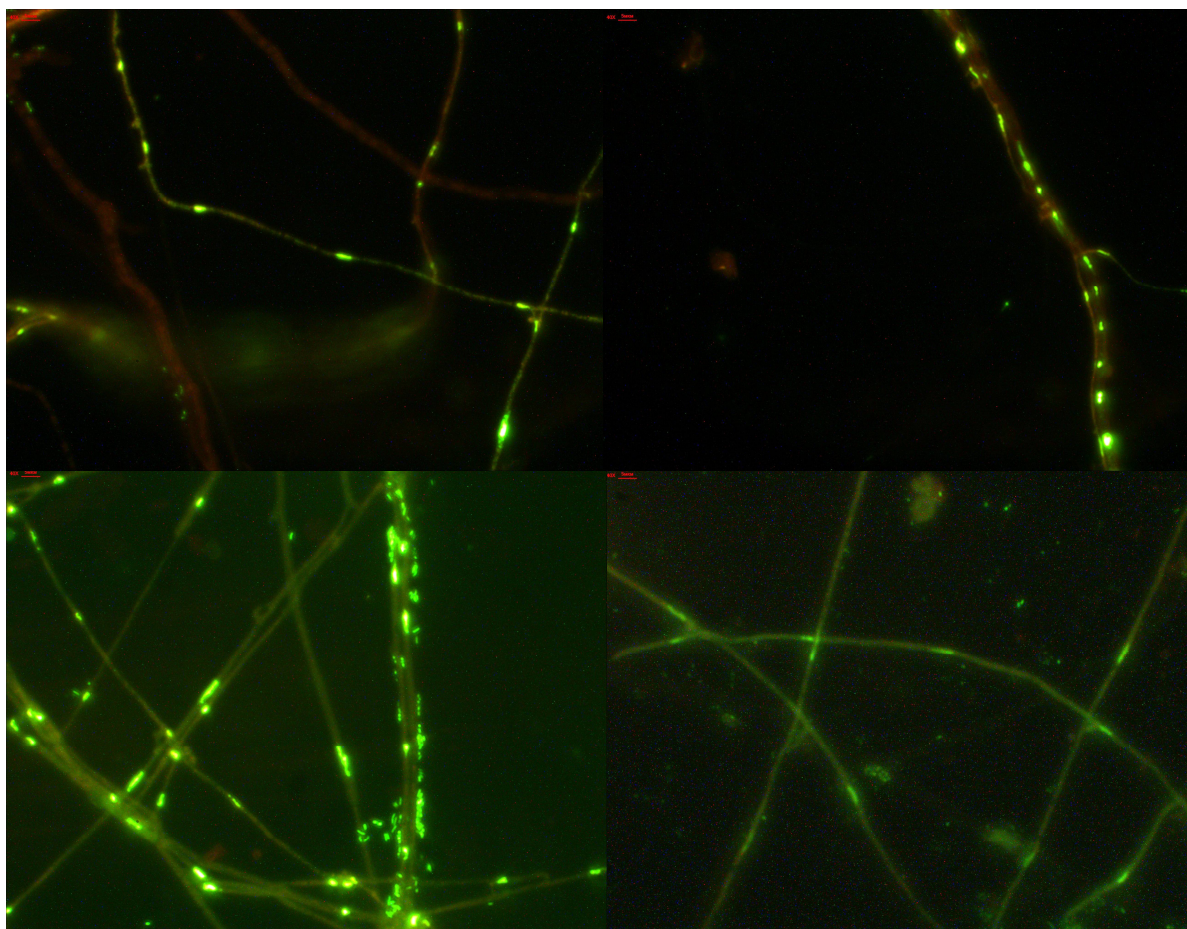


Рисунок 1. Грибной мицелий на пластинках обрастания Росси-Холодного, окрашенный прижизненно флуоресцентным красителем SYBR Green I. Ядра окрашены в ярко-зелёный цвет.

Результаты и обсуждение

Измерение массы опада по ходу его разложения показало, что в первый месяц скорости разложения лиственничного, дубового и кленового опада не сильно различаются. После первого месяца кленовый опад разлагается быстрее, чем дубовый и лиственничный (рис.2). Видимо, когда легкоразлагаемые вещества уже утилизированы микроорганизмами, биодоступность становится основным фактором, определяющим скорость разложения.

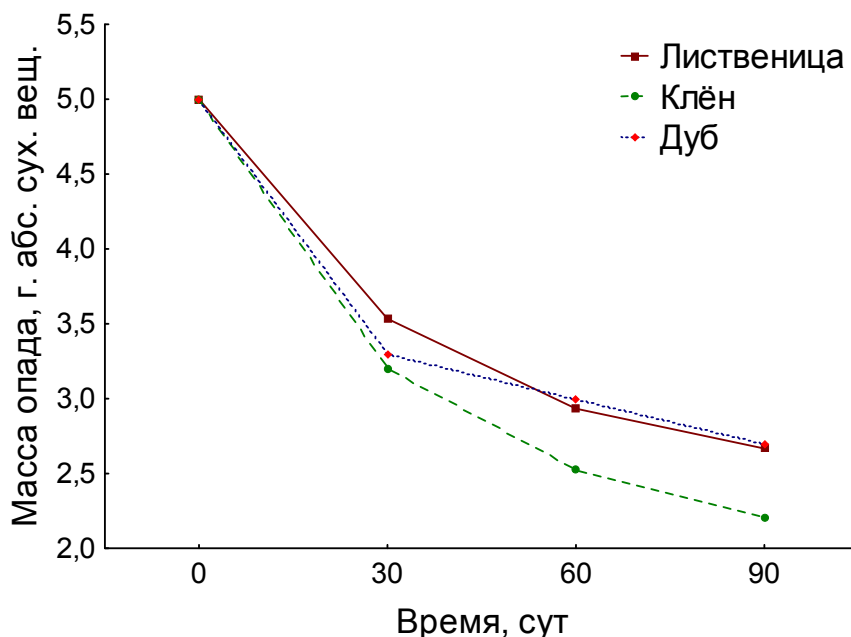


Рисунок 2. Динамика массы опада по ходу разложения опада.

Изучение динамики живого грибного мицелия (с нативной цитоплазмой и ядрами) по ходу разложения опада показало, что в первые 14 дней сукцессии обилие грибного мицелия во всех трех опадах не различается. После 28 суток в лиственничном опаде мицелия становится меньше, чем в дубовом и кленовом, а к 42 суткам в дубовом опаде становится меньше мицелия, чем в кленовом (рис.3). Видимо, эти отличия связаны с присутствием дубильных веществ в дубовом опаде. На поздних этапах разложения (после 50 суток) во всех опадах массово размножаются панцирные клещи (орибатиды), которые съедают весь грибной мицелий.

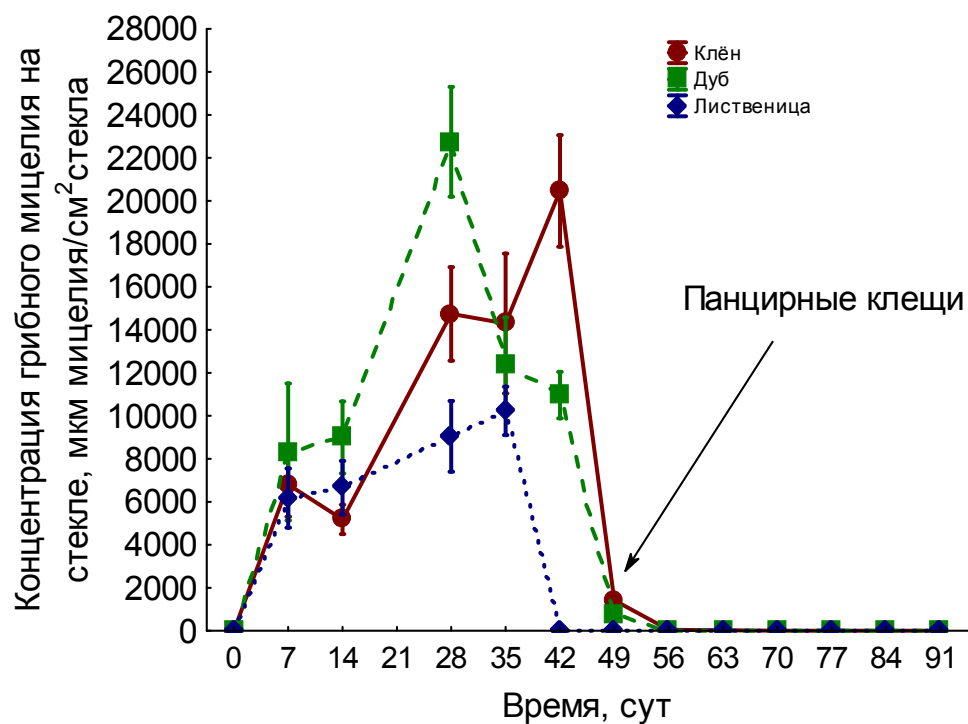


Рисунок 3. Динамика длины грибного мицелия на пластинках обрастания Росси-Холодного в опаде по ходу грибной сукцессии, вызванной разложением опада.

Качественный анализ картины микробных обрастаний выявил, что на раннем этапе сукцессии (рис.4) преобладал меланизированный мицелий, защищающийся от света, падающего на опад, выделением меланоидных пигментов, и во множестве встречались планктонные бактерии и инфузории. Обилие легкодоступных питательных веществ привело к обильному конидиальному спороношению грибов. От исходного микробного сообществ, обитавшего на живых листьях, опад унаследовал обилие дрожжей, дрожжеподобных грибов и фитопатогенных грибов. Установлено, что на среднем этапе сукцессии (рис. 5) спороношение остаётся активным только у целлюлозолитических грибов, распространение получает гиалиновый мицелий и медленно растущий мицелий базидиомицетовых грибов в дикариотической стадии, о чем свидетельствует обильный «пряжковый» мицелий; активно развиваются нематоды. На позднем этапе сукцессии (рис. 6) грибной мицелий в основном уже мертвый и активно разлагается колонизирующими его грибами.

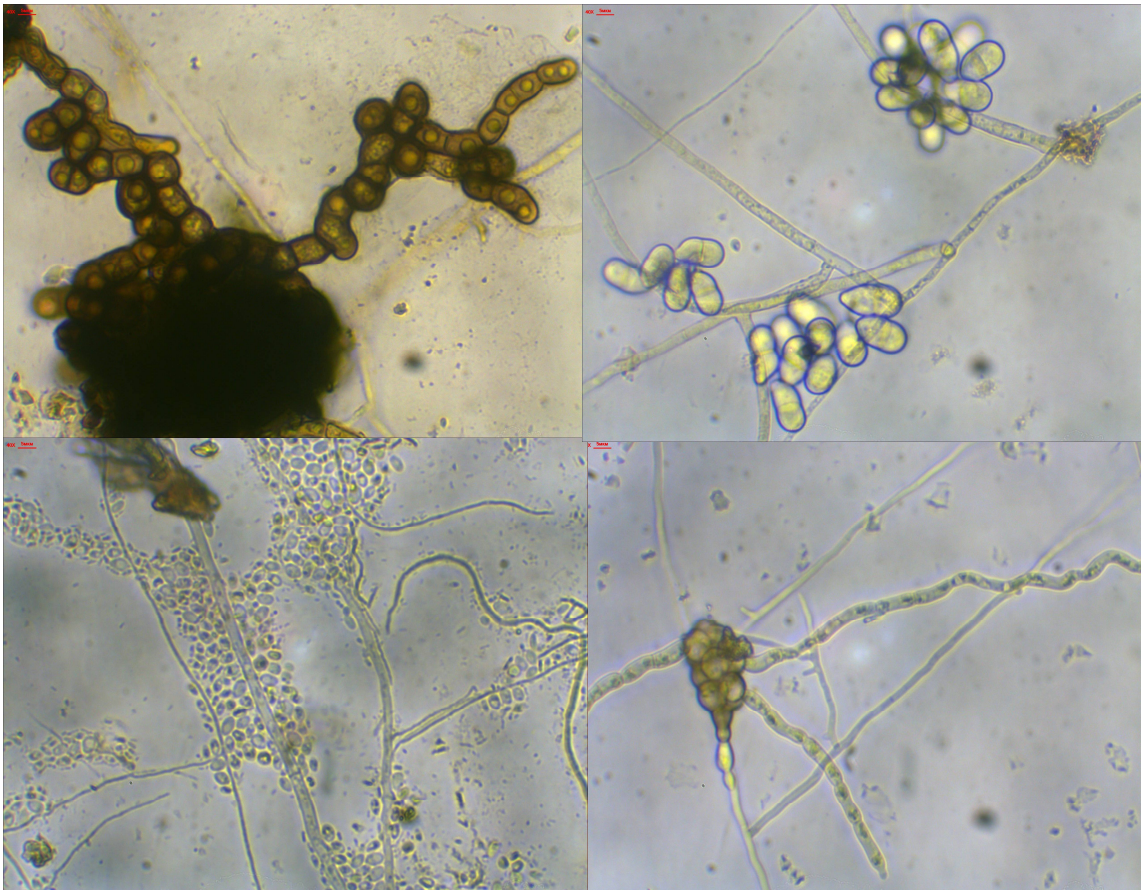


Рисунок 4. Характерные морфологические особенности грибного мицелия в первые 14 дней инкубации опата.

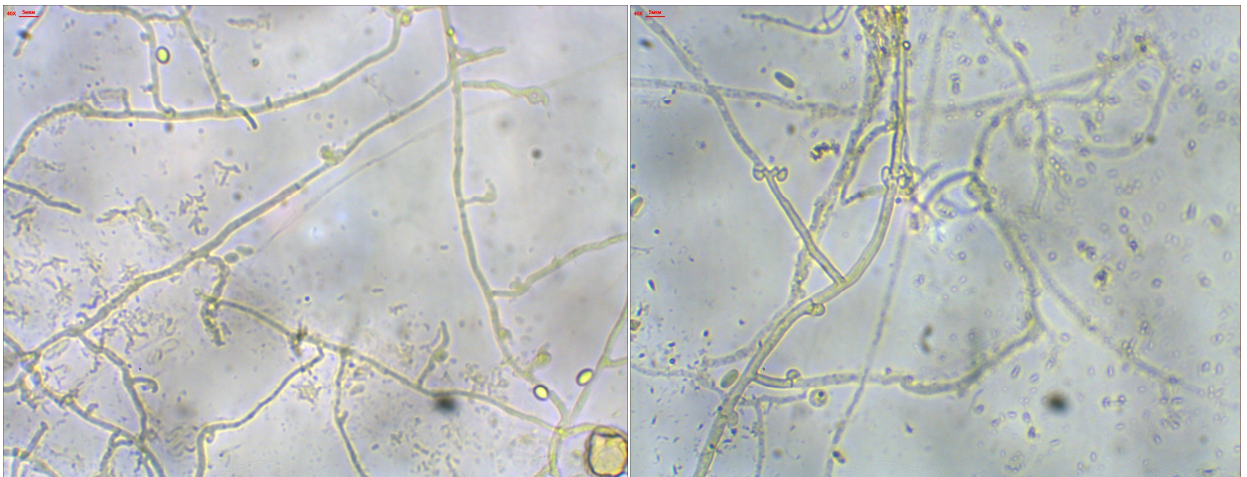


Рисунок 5. Характерные морфологические особенности грибного мицелия в средний этап разложения опата (дни с 20 по 40).

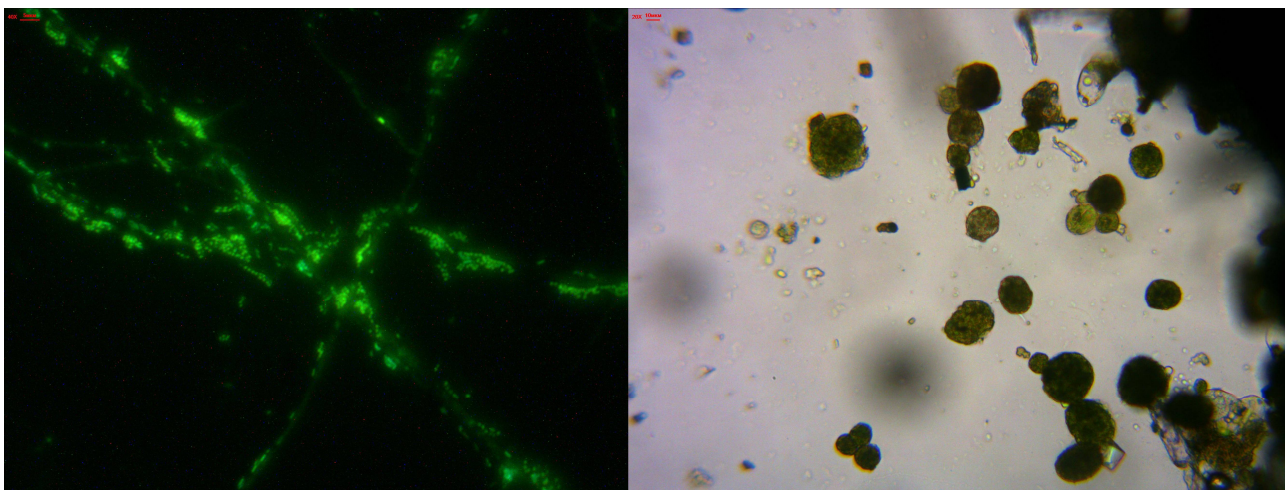


Рисунок 6. Характерные морфологические особенности грибного мицелия на позднем этапе разложения опада.

Выводы

1. В начале разложения (первые 20 дней инкубации) влияние ботанического состава опада на скорость разложения и длину мицелия грибов (как главных деструкторов опада) незначительно.
2. На позднем этапе (после 30 дней), наоборот, биоразлагаемость опада играет ведущую роль: меньше всего мицелия в трудноразлагаемом лиственничном и дубовом опаде, больше всего в легкоразлагаемом кленовом, где и скорость минерализации максимальна.
3. Модернизированный метод пластинок обрастания позволяет получить оригинальную информацию о морфологии, физиологии почвенных микроорганизмов, особенностей межорганизменных взаимодействий, но для большей информативности и правильной интерпретации обрастаний метод требует совместного применения с другими методами структурно-функциональной характеристики микробного комплекса почв.

Список литературы

1. Бабьева И.П., Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Биология почв. Издательство Московского университета. — М. — 2005. — 445 с.
2. Ковда В.А., Розанов Б.Г. Почвоведение в 2 т. Высшая Школа. — Москва. — 1988. — 400 с.
3. Новогрудский Д. М. Почвенная микробиология. — Алма-Ата: Изд. АН Казахской ССР, 1956. — 366 с.
4. Рыбалкина А. В. Активная микрофлора почв / А. В. Рыбалкина, Е. В. Кононенко // Микрофлора почв европейской части СССР. — М. : Изд-во АН СССР, 1957. — С. 174—247.

5. Холодный Н. Г. Методы непосредственного наблюдения почвенной микрофлоры // Микробиология. — 1935. — Т. 4, вып. 2. — С. 153—164.
6. Mergelov N. , Dolgikh A. , Shorkunov I. , Zazovskaya E. , Soina V., Yakushev A. , Fedorov-Davydov D. Pryakhin S. , Dobryansky A. Hypolithic communities shape soils and organic matter reservoirs in the ice-free landscapes of east antarctica. // *Scientific reports*. — 2020. — Vol. 10, no. 1. — P. 10277