

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

**МИКОИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЯ ПОЧВ УЧАСТКА ТЕРРИТОРИИ  
ЛЕСОПАРКА «РАССКАЗОВКА» ПРИЛЕГАЮЩЕГО К БОРОВСКОМУ  
ШОССЕ**

Автор работы:

8 класс

ГБОУ Школа № 1467

Дронек Дарина Игоревна

Руководитель:

Учитель биологии и химии

ГБОУ Школа № 1467

Рудиченко Елена Ивановна

Консультант:

Научный сотрудник

лаборатории Почвенной микробиологии

кафедры Биологии почв факультета Почвоведения МГУ

Якушев Андрей Владимирович

**2023 год**

## Оглавление

<b>Введение.....</b>	<b>3</b>
<b>Обзор литературы.....</b>	<b>4</b>
<b>Методики.....</b>	<b>11</b>
<b>Результаты и обсуждение.....</b>	<b>12</b>
<b>Выводы.....</b>	<b>18</b>
<b>Заключение.....</b>	<b>18</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>19</b>

## Введение

Почвенная подстилка является важным компонентом почвы, необходимым для поддержания жизни наземных животных и растений [2]. Урбанизация территории приводит к деградации почвы - её химическому загрязнению, масштабной физической деградации (эрозии почв, переуплотнению и т. д.). Важно знать состояния почвенной биоты ответственной за восстановление деградированных городских экосистем. Для микроорганизмов в отличие от животных и растений не разработаны общепринятые методы экомониторинга почв [1]. Актуальна задача совершенствования методов экологического мониторинга почвенного микробного сообщества. Исследование микробного комплекса почв важно, так как микроорганизмы отвечают за плодородие почвы, фито-санитарное состояние биогеоценоза и его биоразнообразие определяется составом микроорганизмами и проводимыми ими процессами. Биооценка состояния микробного сообществ очень сложна. Микробное сообщество подвергается частым и быстрым коренным перестройкам во времени в ответ на изменение влажности, температуры, аэрации почв, поступления свежих органических остатков и т.д.; 2. Почва, а следовательно и микробное сообщество очень пространственно неоднородны - микроорганизмы очень различаются на разных почвенных ареалах, из-за наличия разного набора микросред обитания микроорганизмов: различные типы растительных остатков, трупы животных, их ходы и экскременты и т.д.; 3. Для многих микроорганизмов почва - лишь хранилище, в которой они находятся в состоянии покоя. Почва — это огромный пул микроорганизмов на суше. В работе изучалась травяная и листовая почвенная подстилка — поверхностный горизонт почвы, состоящий из органических остатков (мортмассы): листового опада и других остатков растений, экскрементов и трупов беспозвоночных животных, примеси минеральных частиц почвы. 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]. Подстилка была выбрана ещё и потому, что она является основным местообитанием почвенных грибов в почвах. Выбор подстилки как объекта исследования обусловлен ещё и тем, что основные химические загрязнители проникая в почву в первую очередь контактируют с её верхним горизонтом - подстилкой.

Цель данной работы - провести микробиологическую диагностику степени загрязнения почв лесопарка «Рассказовка», расположенных на разном удалении от Боровского шоссе. На основании анализа литературы [1, 2, 3] мы сформулировали нашу рабочую гипотезу: негативное воздействие крупной автодороги приведёт к упрощению микокомплекса почв – преобладанию немногих видов грибов, что мы сможем диагностировать, проведя морфологический анализ грибного мицелия. Задачи: 1. Отобрать образцы генетического горизонта почвы О

(подстилка); 2. Провести микробиологическое исследование грибов; 3. Оценить последствия негативного воздействия со стороны Боровского шоссе на почву лесопарка.

## **Обзор литературы** **Почвенные грибы**

Грибы составляют особую ветвь на эволюционном древе эукариот. Термин *Fungi* (*Mycota*, от *греч.* микос — шампиньон) объединяет гетеротрофные эукариотические микроорганизмы с простой организацией от одноклеточной до нитчатой и мицелиальной. Размножаются грибы спорами. Разрастаясь на поверхности или в глубине субстрата, грибы соприкасаются с ним клеточной стенкой, через которую они выделяют во внешнюю среду ферменты и поглощают питательные вещества абсорбционно. Грибы - разлагатели органических веществ в экосистемах. Почвенные грибы представляют самую крупную экологическую группу эукариот, участвующую в минерализации органических остатков растений и животных и в образовании почвенного гумуса. Полярность клетки, неограниченный верхушечный (апикальный) рост, гетеротрофный тип питания, наличие в клеточной стенке хитина, образование мочевины в процессе азотного обмена, синтез запасных углеводов в форме гликогена, формирование лизосом в цитоплазме — черты, присущие грибам [3].

Для грибов так же характерны мицелиальная структура вегетативного тела; сложный ядерный цикл и плеоморфизм; многоядерность и гетерокариоз (разнокачественность ядер в одной клетке); дикариоза (длительное существование в одной клетке двух ядер, одновременно делящихся и имитирующих диплоидное ядро). Грибы образуют мицелий, или грибницу, состоящую из ветвящихся нитей — гиф с апикальным верхушечным ростом и боковым ветвлением. Такое строение позволяет грибу максимально колонизировать субстрат для извлечения из него питательных веществ. У грибов нет специальных структур, приспособленных для питания, они поглощают питательные вещества всей поверхностью клеток. Различают неклеточный, или ценотический мицелий, лишенный перегородок и представляющий как бы одну гигантскую клетку с большим числом ядер, и клеточный, или септированный, разделенный перегородками (септами) на отдельные клетки, содержащие от одного до многих ядер. Септы могут быть с простыми или сложными отверстиями — порами. Грибы с первым типом мицелия называются низшими, со вторым — высшими грибами. Около перегородок на гифах некоторых грибов закладываются крючкообразные клетки-выросты, соединяющие на время две соседние клетки. Они имеют разную форму и носят название «пряжек», такой мицелий называют «пряжковым», или дикариотическим, так как его клетки содержат по два ядра. У некоторых грибов, например дрожжей, вегетативное тело представлено одиночными почкующимися или делящимися клетками. Если такие почкующиеся клетки не расходятся, то образуется псевдомицелий. При формировании плодовых тел и некоторых вегетативных структур гифы грибов

плотно переплетаются, образуя ложную ткань — плектенхиму. По происхождению она отличается от настоящей ткани, возникающей в результате деления клеток в трех направлениях. Настоящие ткани у грибов встречаются редко [1].

Грибы размножаются вегетативным, бесполом (например, конидиями) и половым путем (образование различных половых структур — зигоспор, сумок или базидий)[3].

Грибы — плейоморфные организмы; один вид может иметь несколько стадий развития, которые различаются морфологически, функционально и проходят в разных местообитаниях или со сменой растений-хозяев. Например, некоторые фитопатогенные грибы имеют сапротрофную почвенную стадию[1, 3].

Распространены они повсеместно в природе и в окружении человека там, где есть хотя бы следы органических веществ. Споры грибов практически можно обнаружить на любых естественных субстратах, искусственных материалах и продуктах. Все грибы — аэробные организмы, за исключением части видов дрожжей и обитателей кишечных трактов многих травоядных животных, в том числе обитателей рубца жвачных животных. Среди грибов есть паразиты и симбиотрофы, хищники и сапротрофы, развивающиеся на мертвых остатках растений и животных. Грибы могут быть причиной порчи многих пищевых продуктов, зерна, картофеля, а также деревянных и других сооружений, вплоть до стекла. Среди грибов есть возбудители опасных болезней человека, животных и растений. Они могут быть причиной токсикоза почв и пищевых отравлений человека и животных. Плодовые тела многих грибов употребляются в пищу как человеком, так и многими животными. Известно свыше 100 видов съедобных грибов. Экологическая ниша грибов в природе — активные разлагатели органического вещества. По взаимоотношению со средой и другими организмами на основе трофических связей грибы можно разделить на шесть экологических групп: 1) сапротрофы — большинство почвенных грибов; 2) облигатные патогены животных и растений, находящиеся в почве в виде спор; 3) факультативные патогены животных, подземных и надземных частей растений, способные активно размножаться и в почве на растительных остатках; 4) микоризообразователи; 5) хищные грибы 6)лихенизированные грибы [1,3].

Грибы-хищники уничтожают вредных нематод и амёб и представляют перспективу для разработки биологических методов борьбы с вредителями корневых систем растений. Выделяется также группа лишайниковых грибов-симбионтов, живущих вместе с водорослями и цианобактериями в составе лишайника. Несмотря на то что все грибы являются гетеротрофами, они очень разнообразны по своим пищевым потребностям и возможностям в освоении субстрата и поэтому составляют еще несколько экологических подгрупп. Эти различия объясняются главным образом различием в наборе ферментов, которыми они обладают. Различают так называемые «сахарные грибы», использующие легкодоступные углеводы, крахмал, гемицеллюлозу, но не

целлюлозу. Это немногочисленная группа несмотря на то, что сахар доступен всем организмам. Основная особенность этой группы — активный рост мицелия, быстрое прорастание спор и покоящихся клеток при наличии подходящих субстратов. Целлюлозоразрушающие грибы — менее определенная группа по пищевым потребностям, так как она включает грибы, у которых это свойство может быть выражено и очень слабо, и очень сильно. Эти грибы растут медленно и не выдерживают конкуренции с «сахарными грибами» за легкодоступные субстраты. Третья группа — разлагатели лигнина входят грибы, которые начинают развиваться, когда все легкодоступные субстраты уже использованы. По мере разложения растительных остатков начинают развиваться грибы, довольствующиеся малым количеством питательных веществ и способные разлагать специфические вещества гумуса. Есть экологические группы грибов разлагателей кератина, входящего в состав шерсти, перьев, рогов, копыт; разлагателей навоза — копрофилы; ксилофаги, разрушающие древесину; гербофилы, развивающиеся на травах; микофилы, растущие на других грибах, и др. Многие почвенные грибы образуют темноокрашенный мицелий. Они синтезируют меланиновые (черные) пигменты. После отмирания мицелия меланины накапливаются в почве и входят в состав почвенного гумуса. Мицелий грибов агрегирует почвенные частицы, структурируя почву. Грибы выделяют в среду многие органические кислоты, растворяют труднодоступные фосфаты, улучшая питание растений. Почвенные грибы способны осуществлять процесс гетеротрофной нитрификации. Мицелий грибов в почве достигает общей длины от сотен до десятков тысяч метров на 1 г почвы, максимальная длина мицелия 35 км/г почвы. Биомасса, накапливаемая в почве грибами, достигает 1-2 т/га. Особенно много грибов в лесных подстилках. У большинства почвенных грибов мицелий живет недолго, но есть и многолетний мицелий у микоризных грибов, ассоциированных с корнями древесных пород. Есть также многолетние плодовые тела грибов-трутовиков, развивающихся на живых и мертвых деревьях. Грибы синтезируют и выделяют во внешнюю среду разнообразные гидролитические ферменты, расщепляющие любые органические субстраты вплоть до лигнина. Благодаря этим способностям грибы выполняют функцию разлагателей в аэробной зоне. За сутки они разлагают в 2-7 раз больше органического вещества, чем потребляют. Быстрое накопление биомассы и продуцирование различных биологически активных веществ сделали грибы важными продуктами питания и объектами микробиологической промышленности. Грибы были первыми микроорганизмами, которые человек использовал для улучшения питательных свойств растительной и животной пищи. Дрожжи с незапамятных времен дали человечеству два важнейших продукта, без которых развитие цивилизации было бы немыслимо — хлеб и вино. С грибами связаны две революции в медицине нового времени. Первая — открытие антибиотика пенициллина. Этот первый нашедший клиническое применение антибиотик спас от смерти больше людей, чем все остальные лекарства, вместе взятые. С его открытием стало возможно лечить болезни,

считавшиеся ранее абсолютно летальными, такие как перитонит, сепсис. Вторая фармакологическая революция произошла недавно когда были открыты грибные антибиотики цефалоспорины с иммунодепрессивным действием, что дало возможность пересаживать органы человеку [1, 3].

### **Разнообразие грибов в почве**

В почве среди грибов встречаются хитридиомицеты (*Chitridiomycota*), мукоровые грибы (*Mucoromycota*), аскомицеты (*Ascomycota*) и базидиомицеты (*Basidiomycota*)[1].

Представители *Chitridiomycota* — единственная группа почвенных грибов представители которой в цикле развития имеют подвижные жгутиковые стадии (зооспоры). Это наиболее древняя группа грибов. Мицелий без перегородок. Отдел включает преимущественно водные формы (морские и пресноводные), но есть и почвенные паразиты водорослей, цветковых растений, беспозвоночных и грибов, или сапротрофы на субстратах, содержащих хитин, целлюлозу или кератин[3].

*Mucoromycota* включает грибы, мицелий которых не разделен септами, исключение составляют представители некоторых порядков. Клеточные стенки мицелия содержат хитин и хитозан (деацетилированный хитин). Подвижные стадии отсутствуют. Бесполое размножение осуществляется спорангиоспорами, образующимися в спорангиях. Половой процесс — зигогамия — известен не у всех групп. В эту группу включают сапротрофные грибы и паразиты растений, животных, грибов [1,3].

На несептированном мицелии зигомицетов развиваются спорангии — особые вместилища бесполого спор, которые высыпаются при вскрытии спорангия и прорастая дают начало мицелиям разного полового знака. При половом процессе сливаются кончики гиф разных мицелиев и из продукта слияния (зиготы) формируется толстостенная покоящаяся зигоспора, которая после периода покоя прорастает зародышевым спорангием [1,3].

Эти грибы представлены в почве преимущественно сапротрофами, некоторые — паразитами на растениях и грибах, на животных и человеке. Мукоровые грибы участвуют в разложении органических веществ в почве (часто азотсодержащих), некоторые разлагают пектин [1,3].

Аскомицеты и базидиомицеты — очень близкие группы грибов. Это давно признавалось микологами, выдвигавшими гипотезы происхождения базидиомицетов от тех или иных групп аскомицетов или их происхождения от общего предка. Современные исследования в области молекулярной филогении подтвердили близость этих групп грибов. Можно отметить ряд важных таксономических признаков, объединяющих эти группы грибов: наличие в их циклах развития дикариотической фазы разной продолжительности; мицелий с септами разного строения, имеющими центральную пору; таллом преимущественно мицелиального строения, в отдельных группах — дрожжеподобный (или дрожжеподобная стадия в цикле развития); клеточная стенка хитин-гексанового типа с разной долей участия хитина; у дрожжей в

клеточной стенке присутствуют маннаны; бесполое размножение конидиями; отсутствие подвижных стадий; тенденция к образованию плодовых тел. Эти группы грибов различаются по характеру образования половых спор (эндогенному, в сумке, у аскомицетов или экзогенному, на базидиях, у базидиомицетов); продолжительности дикариофазы в цикле развития; строению септ в мицелии; ряду биохимических признаков [1,3].

**Ascomycota** — сумчатые грибы характеризуются эндогенным образованием половых спор (аскоспор); имеют неслоистую септу с простой центральной порой; непродолжительную дикариофазу. Это самая большая по числу видов группа грибов (до 75% всех известных видов). Она включает также дрожжи и грибы — симбионты лишайников. Основная отличительная черта этих грибов — наличие сумки, или аска. Сумка представляет собой специализированную клетку, формирующуюся в результате полового процесса и являющуюся его конечным этапом, которому предшествует плазмोगамия, кариогамия и мейоз. Сумка — репродуктивный орган, в ней формируются обычно 8 спор. Для аскомицетов характерен септированный мицелий и полное отсутствие подвижных форм. Споры прорастают в многоклеточный мицелий, на котором могут формироваться бесполое споры — конидии, играющие большую роль в цикле развития аскомицетов. Конидии образуются на выростах мицелия — конидиеносцах с разным строением. Сумки могут развиваться прямо на мицелии или внутри специальных образований — плодовых тел, которые в зависимости от строения носят разные названия — клейстотеции (замкнутые),

перитеции (с отверстиями на вершине), апотеции (блюдевидные). Весенние грибы леса — сморчки и строчки имеют апотеции в форме сморщенной шляпки на ножке. На поверхности шляпки открыто развивается слой сумок. На почве в местах бывших пожарищ, на навозе лесных зверей часто можно видеть блюдевидные апотеции желтого, оранжевого, красного или коричневого цвета представителей рода *Peziza*. На навозе травоядных животных развиваются перитеции копрофильных грибов рода *Sordaria*. Большинство видов аскомицетов — сапротрофы. В конидиальной стадии некоторые аскомицеты вызывают болезни культурных растений — мучнистую росу, паршу яблонь и груш. Среди них есть микоризообразователи и симбионты лишайников [1,3].

**Basidiomycota** — отдел наиболее высокоорганизованных грибов. Основная отличительная черта этих грибов — наличие специализированного органа — базидии, развивающегося в результате полового процесса и являющегося его конечным этапом. Базидия, как и сумка, — репродуктивный орган, на ней образуются споры, с помощью которых идет дальнейшее размножение особи. Базидия представляет собой либо одну большую нерасчлененную клетку, развивающуюся из конечной клетки гифы, либо образование, расчлененное перегородками. Характерной особенностью базидии является наличие наружных выростов — стеригм, на которых располагаются базидиоспоры. На каждой базидии обычно располагается по четыре базидиоспоры. Типы базидий — важный таксономический критерий у

базидиомицетов. Базидии образуются на мицелии, плодовых телах различного строения и из покоящихся спор. Прорастание базидиоспор — также один из ведущих признаков в таксономии группы. У большинства базидиомицетов базидиоспора прорастает ростовой трубкой, однако, у некоторых групп наблюдается образование вторичных спор или дрожжеподобное почкование спор [1,3].

Другая существенная характеристика базидиальных грибов — своеобразное строение септ мицелия. Строение септ в мицелии базидиомицетов разнообразно и существенно отличается от простых неслоистых септ аскомицетов. У большинства базидиомицетов характерное строение мицелия: он имеет так называемые «пряжки», т.е. небольшие полукруглые клеточки, лежащие сбоку на гифе, против поперечной перегородки в ней. Одна часть каждой «пряжки» сообщается сосновной нитью мицелия. Эти «пряжки» имеют специальное назначение. Они участвуют в синхронном делении дикарионов в гифе. Вырастающий из споры мицелий является монокариотическим. Он существует недолго. Две клетки одного и того же мицелия или разных мицелиев сливаются, а их ядра объединяются в пары — дикарионы. Такой мицелий с ядрами-дикарионами называется дикариотическим. При делении ядра дикарионы располагаются рядом посередине клетки. Одно ядро при делении отходит в «пряжку». Затем под основанием выраста поперечная перегородка, а также перегородка в основании «пряжки». Другая часть «пряжки» соприкасается с гифой, между ними образуется отверстие, ядро из «пряжки» переходит в клетку гифы и восстанавливает ее двуядерность. Дикариотический мицелий существует долго, пронизывая почву, древесину, ткани растения-хозяина. В подстилке образуются макроскопические ризоморфы — пучки гиф, окруженные «корой». У трутовиков, развивающихся на стволах деревьев, у шляпочных грибов мицелий многолетний. Плодовые тела базидиомицетов могут иметь разнообразную форму. На мицелии они часто располагаются по кругу, образуя так называемые «ведьмины кольца». Конидиальное бесполое спороношение у базидиомицетов встречается редко. У большинства базидиомицетов базидии располагаются на поверхности или внутри плодовых тел. Образование базидий происходит из кончика гифы дикариофитного мицелия. Развитию базидии предшествует слияние пары ядер дикариона в одно диплоидное ядро. Плодовые тела однолетние и многолетние, размеры их от микроскопических до крупных, диаметром до десятков сантиметров и весом более 1 кг, а иногда и выше. Они бывают рыхлыми, мясистыми, кожистыми, деревянистыми; имеют форму корочек, рогов, копытообразных наростов, шаровидных образований или состоят из ножки и шляпки [1,3].

Аскомицеты и базидиомицеты включают около 1/3 всех известных грибов, принадлежащих к различным эколого-трофическим группам — сапротрофам на различных субстратах, паразитам растений, реже других групп организмов, симбиотрофам (микоризообразователи и редко симбионты лишайников)[1,3].

Грибы, вегетативная стадия которых представлена одиночными почкующимися или делящимися клетками, называют дрожжами. Дрожжи не составляют единого таксона среди фибов и встречаются как среди аскомицетов, так и среди базидиомицетов и несовершенных. Клетки дрожжей имеют разную форму: округлую и овальную, стреловидную и лимоновидную, цилиндрическую и палочковидную, треугольную и серповидную. Иногда они образуют структуры, имитирующие мицелий. Он отличается от истинного мицелия тем, что возникает в результате почкования, а не апикального роста гиф и поэтому называется ложным, или псевдомицелием [1].

У дрожжей, которые относятся к аско- или базидиомицетам, есть половой процесс, приводящий соответственно к образованию сумок или базидий. В них развиваются гаплоидные споры, при почковании которых восстанавливается вегетативная стадия. Известно около 1000 видов дрожжей, среди которых большинство — аскоспоровые или их несовершенные стадии (анаморфы). К аскомицетам относятся все так называемые «культурные» дрожжи, способные к спиртовому брожению и издавна используемые человеком для производства хлеба, пива, вина и некоторых других пищевых продуктов. Среди культурных дрожжей наиболее известны *Saccharomyces cerevisiae* (пивные, винные и пекарские дрожжи), *Schizosaccharomyces pombe* — африканские делящиеся дрожжи, активно сбраживающие сахара при температуре выше 30 °С. В природе дрожжи в основном находятся в ассоциации с растениями. Они обильно развиваются на листовых пластинках, в нектаре цветков, в экссудатах деревьев, в раневых повреждениях кактусов, на поверхности ягод, плодов и фруктов. Вместе с этими субстратами они попадают в подстилку и почву. Их заносит в почву и насекомые, которые служат главными агентами распространения дрожжей в природных экосистемах. По сравнению с другими грибами дрожжей в почве относительно немного. Из типичных обитателей почв (педобионтов) наиболее хорошо изучены дрожжи рода *Lipomyces*, почти все виды которого живут только в почвах и не встречаются в других местообитаниях. Эти дрожжи характеризуются многими особенностями, свидетельствующими о приспособленности липомицетов к жизни в почвенной среде. Они не способны к брожению и используют углеродные субстраты только путем прямого окисления. При этом большая часть потребляемого углерода переводится в запасные внутриклеточные липиды и в капсульные полисахариды. Липомицеты могут нормально существовать в средах с количествами азота в виде следов, где соотношение С: N достигает 1000 и более. Они выделяют в среду гидролитические ферменты, особенно амилазы, расщепляющие различные связи в крахмале; могут разлагать другие сложные соединения гетероциклического строения, например азотсодержащее вещество паракуват, используемое в качестве пестицида. Разные виды липомицетов различаются по структуре их аскоспор. Роль этих дрожжей в почве многогранна. Они участвуют в трансформации органических веществ, их внеклеточные полисахариды оказывают влияние на структурные свойства почвы, увеличивая водопрочность агрегатов, а также, возможно, они

включаются в молекулы гумусовых веществ. Кислые гетерополисахариды дрожжей выступают как комплексообразователи при извлечении элементов из минералов. Они могут использоваться бактериями в качестве углеродного субстрата. При этом создаются бактериально-дрожжевые азотфиксирующие ассоциации с более высоким уровнем активности, чем чистые культуры бактерий [1,3].

### Методики

В работе исследовался лесопарк «Рассказовка» – часть Ульяновского Лесопарка, который является особо охраняемой территории города Москвы расположенная между микрорайонами Переделкино Ближнее и Солнцево-Парк вдоль Боровского шоссе. Этот природный объект подвергается интенсивного антропогенному воздействию: рекреационная нагрузка, автодорожное воздействие, строительная нагрузка- на прилегающей территории велась и ведётся активная строительная деятельность, поэтому строительная пыль проникает на территорию лесопарка. Точки отбора проб приведены на рис. 1.



Рис.1. Карта Лесопарка «Рассказовка»: слева-общая карта, справа-область отбора образцов. Красные точки – места отбора проб, обозначенные на карте «Яндекса»: Л- Берёзовый лес внутри лесопарка, Б-буферная зона, опушка леса, прилегающая к Боровскому шоссе. Д- участок суходольного постоянно косимого луга, прилегающий вплотную к дороге.

Объектом для микробиологического исследования выступала подстилка (подгоризонт Л- опавшие и полуразложившиеся растительные остатки деревьев и трав). Точка у самой дороги (Д) была выбрана как наиболее загрязненное автодорогой место. На данной территории подстилка представляла из себя полуразложившуюся скошенную в ходе регулярного окашивания дороги траву злаков. Поэтому это самая освещенная подстилка. Буферная зона (точка «Б») – это опушка берёзового леса, названа так условно, та как деревья явно угнетены из-за воздействия расположенной рядом автодороги- имеются сухие ветки, видна задержка роста, чахлая листва и т.д. Точка «Л» располагалась в глубине берёзового леса как наименее загрязненного участка в пределах исследованной территории. Микробиологическое изучение было направлено на исследование комплекса почвенных грибов, как важнейшего компонента микробного комплекса почв, ответственного за разложение мортмассы [3]. Микробиологический анализ проводился модернизированным методом

пластинок обрастания Росси-Холодного [4, 5, 6]. В отличие от исходной методики количественный анализ микроскопической картины обрастаний в специализированной компьютерной программе по фотографиям, сделанным при помощи цифровой камеры, так же проводилось селективное окрашивание клеточной стенки гиалинового (не механизированного, светлого) мицелия. Описание этапов эксперимента: 1. Отбор подстилок проводился в первой половине октября 2023 года в пяти точках в пределах одного места пробоотбора; 2. Подстилку высушивали до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре в тени на протяжении 7 суток; 3. Смешанные образцы воздушно-сухой подстилки помещали по 3 г. (в пересчёте на абс. сух. подстилку) в чашки Петри на поверхность почвы помещали по 5 покровных стекол на 1 чашку Петри; реувлажняли до 200% влажности для провокации начала быстрого развития грибного мицелия; 4. Заматывали бок чашки Петри в один слой лентой «Парафилм» для снижения испарения и инкубировали 7 дней при комнатной температуре на рассеянном дневном свете на подоконнике северной экспозиции. 5. Стёкла изымали из почвы и микроскопировали на микроскопе «Биомед-6 ЛЮМ» (40х объектив) с фотофиксацией микробного обрастания на цифровую камеру DCM-510; клеточная стенка грибов окрашивалась флюоресцентным красителем калькофлюором белым, морфометрический анализ микробных обрастаний проводили в программе ScorePhoto. Биомасса рассчитывается по объёму клеток из расчёта плотности микробной биомассы – 1,1 г/см<sup>3</sup>[1]. Грибные гифы принимались за цилиндр, клетки дрожжей за эллипсоид. Статистическая обработка данных заключалась в том, что результаты представляли как средние арифметические значения величин ± доверительные интервалы при  $p=0.95$ .

### **Результаты и обсуждение**

В ходе исследования были выявлены следующие морфологические группы вегетативных клеток грибов (споры мы не учитывали в этой работе): гиалиновый несептированный мицелий, септированный гиалиновый и меланизированный (защищенный от ультрафиолетового излучения меланином), пряжковый гиалиновый и меланизированный мицелий, гиалиновые клетки почкующихся дрожжей (рис.2-6).

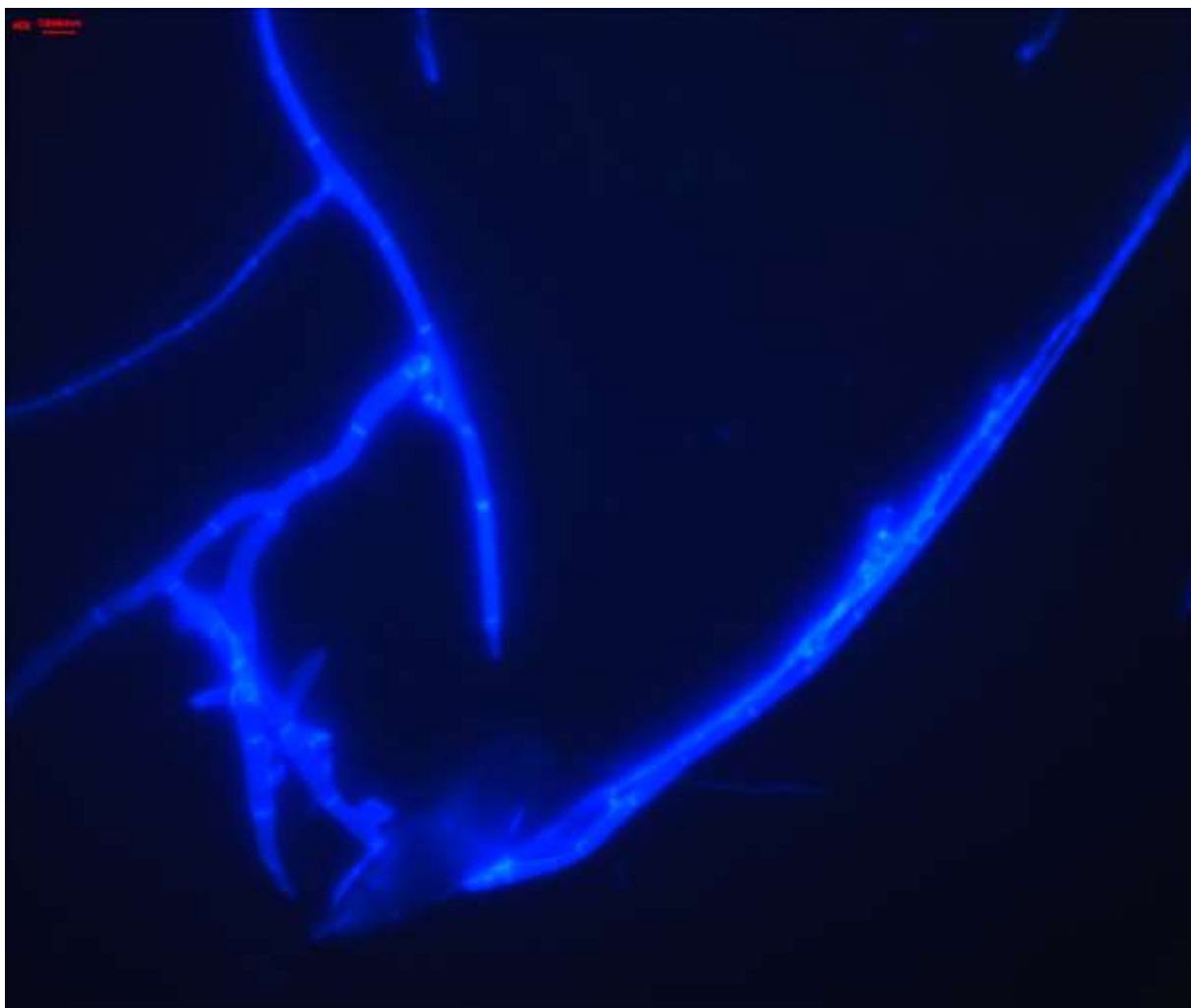


Рис. 2. Гиалиновый септированный мицелий, окраска калькофлюром белым



Рис. 3. Меланизированный сетированный мицелий (не окрашенный калькофлюором белым).

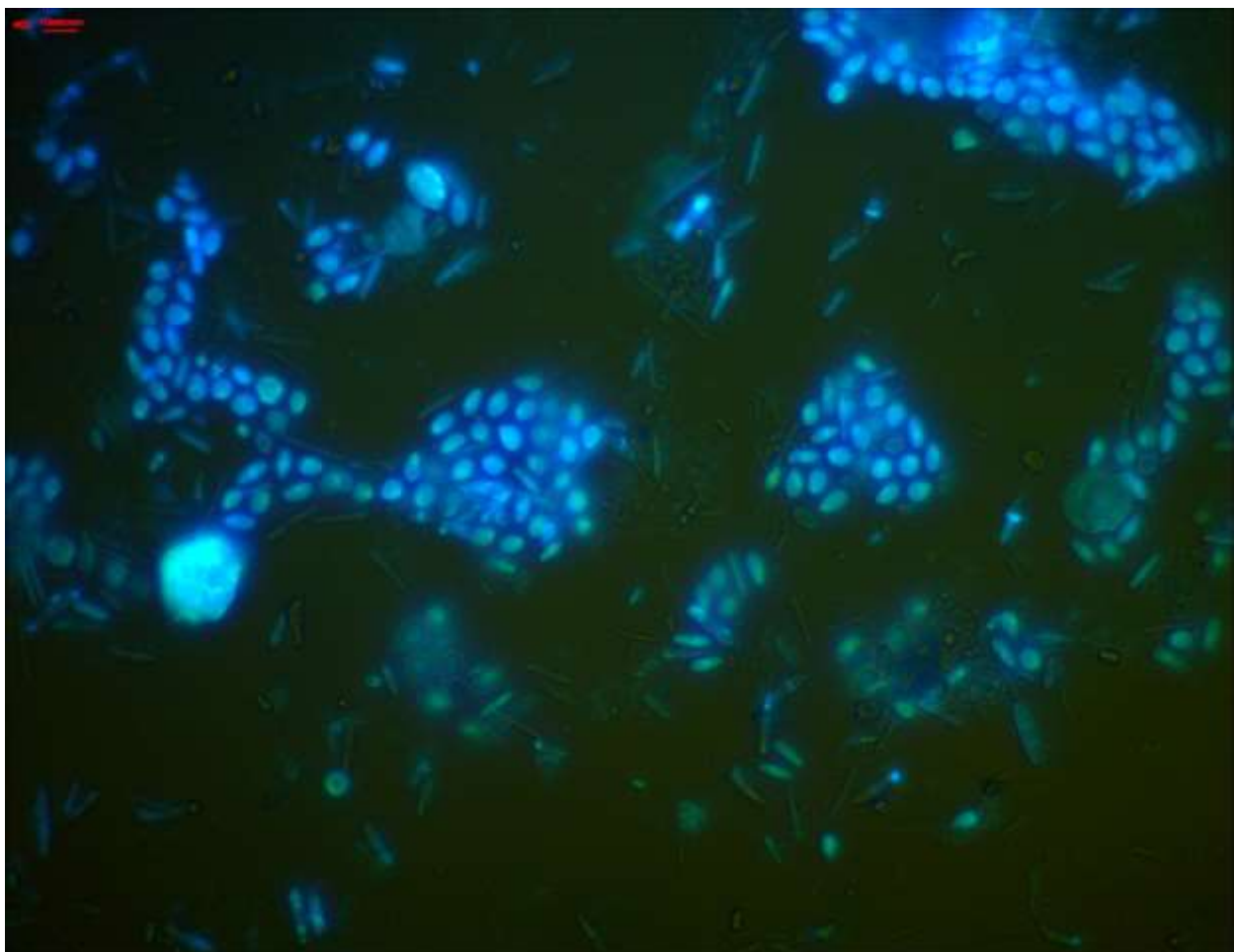


Рис. 4. Дрожжи гиалиновые (диагностируются по делению клеток)

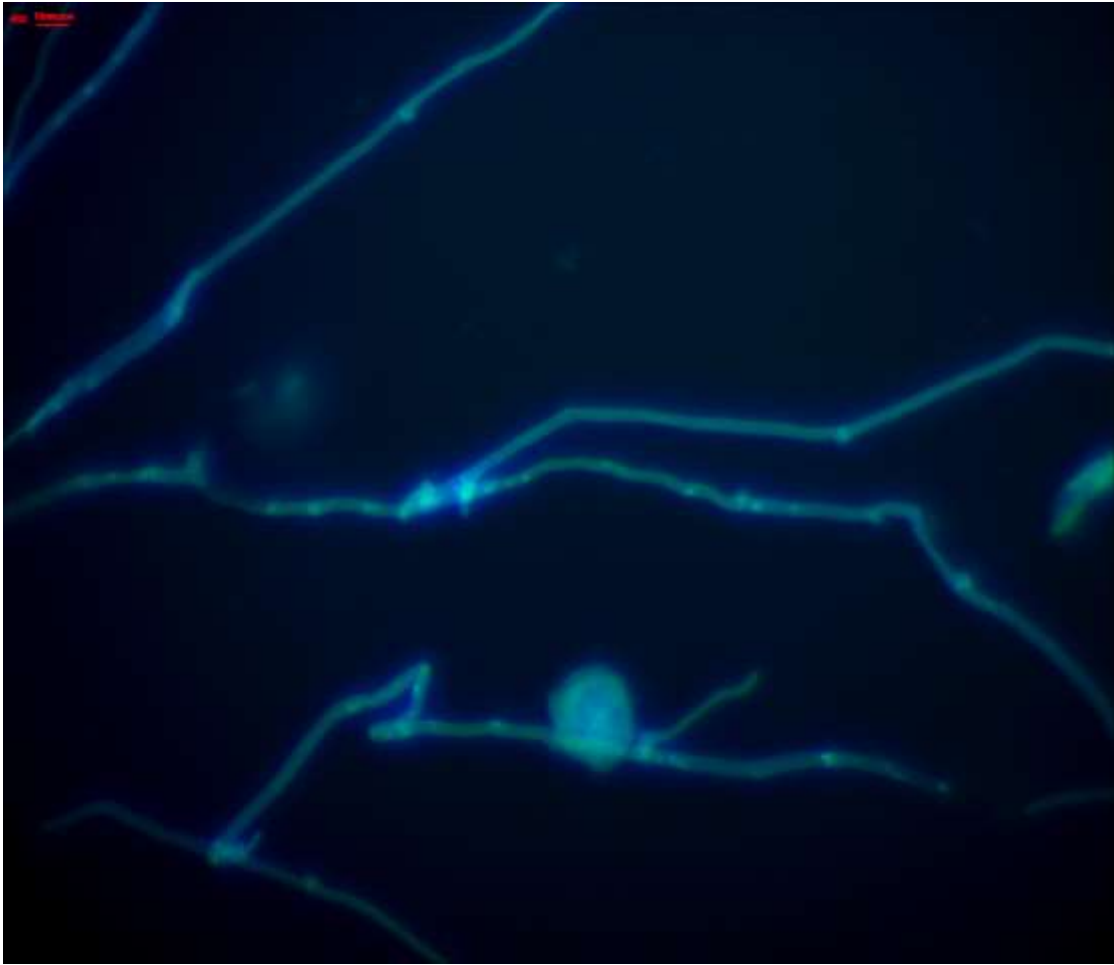


Рис. 5 . Гиалиновый пряжковый мицелий



Рис. 6. Гиалиновый несептированный мицелий.

В подстилке зоны, непосредственно прилегающей к Боровскому шоссе (точка «Д») преобладает гиалиновый септированный мицелий, и отсутствует в обрастаниях встречающийся в других участках лесопарка «Рассказовка» пряжковый мицелий (рис. 7(а)). В менее загрязнённых и менее освещённых участках (точки Б и Л), преобладает меланизированный септированный мицелий, что характерно для подстилки. Это можно расценивать как признак

того, главным негативным фактором является не сильная инсоляция подстилки (от которой грибы защищает меланин) но сильное химическое загрязнение, которое поступает с дороги и которое позволяет доминировать не меланизированным, но резистентным к загрязнению грибам. Только в этой точке отсутствует пряжковый мицелий (базидиомицеты в состоянии дикариона), который отличается более медленным ростом и пропадает при сильном загрязнении территории. Дрожжи и несептированный мицелий (мукоровые грибы) встречается везде в небольшом количестве. Обилие грибов было одинаковым во всех трех местах отбора проб (рис. 7(б)).

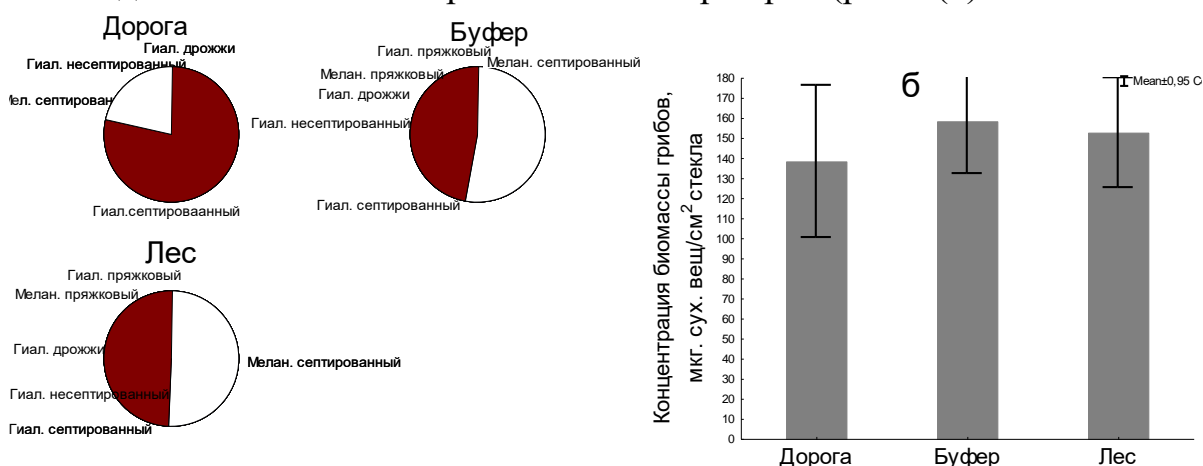


Рис. 7. Соотношение доли биомассы различных морфотипов грибного мицелия на стёклах обрастания (а) и суммарная биомасса вегетативных грибных клеток(б), «столбики» - среднее арифметическое, «усики» - доверительные интервалы при  $p=0.95$ .

## Выводы

1. Наблюдается необычное доминирование гиалинового мицелия в подстилке почвы на участке, вплотную прилегающему к Боровскому шоссе. Это можно расценивать как признак того, главным негативным фактором является не сильная инсоляция подстилки (от которой грибы защищает меланин) но сильное химическое загрязнение, которое поступает с дороги и которое позволяет доминировать не меланизированным, но резистентным к загрязнению грибам.
2. Только в этой точке отсутствует пряжковый мицелий (базидиомицеты в состоянии дикариона), который отличается более медленным ростом и пропадает при сильном загрязнении территории.
3. Обилие грибного мицелия одинаково во всех трёх точках отбора проб

## Заключение

Следует рекомендовать установить защитные экраны вдоль Боровского шоссе на протяжении всего участка дороги, прилегающего к лесопарку, чтобы снизить поступление токсичной пыли. Нужно провести специальные водоотводящие каналы, чтобы снизить поступление загрязненных вод с дороги

на территорию лесопарка. Предлагаем раз в несколько лет менять верхний слой почвы на территории, прилегающей вплотную к дороге. Рекомендуем проводить мониторинговые мероприятия по выявлению фитопатогенных и условно-патогенных для человека грибов на территории лесопарка.

### 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. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология Учебник. М.: Изд-во МГУ, 1988.
4. Новогрудский Д. М. Почвенная микробиология. Алма-Ата: Изд. АН Казахской ССР, 1956. 366 с.
5. 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.
6. Холодный Н. Г. Методы непосредственного наблюдения почвенной микрофлоры // Микробиология. 1935. Т. 4, вып. 2. С. 153—164.