

BIOGEOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF PARKS AND PUBLIC GARDENS IN ROSTOV-ON-DON

© 2017

Shishkina Diana Yurievna, candidate of geographical sciences,
associate professor of Geoecology and Applied Geochemistry Department
Southern Federal University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Abstract. The distribution of heavy metals and arsenic in the soils and leaves of the locust in the parks and squares of Rostov-on-Don was studied. 81 samples of soil and 30 samples of leaves were selected in 13 parks of the city. To determine the concentrations of elements, we used the approximate-quantitative and atomic-absorption analyses. For all elements, the concentration coefficient was calculated, as well as the hazard factor representing the multiplicity of exceeding the MAC or AAC. The total pollution index (Z_c), which is the sum of the excess concentrations of individual elements above the background level, was used to characterize complex pollution. When comparing the average concentrations of metals and arsenic with the natural pedogeochemical background, a geochemical association is revealed: $Cu_{2,5}Zn_{2,3}Pb_{1,8}V_{1,3}Hg_{1,3}Ni_{1,2}Cd_{1,2}$, typical of Rostov-on-Don soils. Weakly local pollution of soils of parks and squares with zinc, copper, vanadium and lead was revealed. The most common pollutant is zinc, for which the highest excess of AAC is characteristic. Pollution of the soil cover of recreational areas is assessed as permissible. With the passage of time, the concentration of zinc decreases and the concentrations of copper and vanadium increase in the soils of park landscapes. There has been increasing biological absorption by the leaves of the locust copper and molybdenum.

Keywords: Rostov-on-Don; heavy metals; parks and public gardens; danger coefficient; concentration coefficient; total pollution index; biological absorption coefficient; geochemical background; chernozem; locust; geochemical associations; zinc; vanadium; copper; lead; molybdenum; permissible soil contamination.

УДК 631.46

Статья поступила в редакцию 26.10.2017

МОДЕЛИРОВАНИЕ РОСТА ГРИБНОГО МИЦЕЛИЯ С ПОМОЩЬЮ КЛЕТОЧНОГО НЕПРЕРЫВНОГО СТОХАСТИЧЕСКОГО АВТОМАТА ЧЕТВЕРТОГО КЛАССА С НЕПРЕРЫВНО ЗАДАНЫМИ УСЛОВИЯМИ РОСТА

© 2017

Шумилов Анатолий Сергеевич, аспирант,
младший научный сотрудник лаборатории математического моделирования экосистем
Благодатский Сергей Александрович, доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории почвенных циклов азота и углерода
*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения
(г. Пуцино, Московская область, Российская Федерация)*

Аннотация. Целью данной работы являлось моделирование роста и пространственной структуры грибного мицелия с использованием клеточного автомата на основе синтеза различных модельных подходов. Пространственная структура мицелия описывается в структурной подмодели клеточного автомата, которая определяет скорость роста в направлении большего количества ресурсов и количество ветвлений мицелия на единицу площади субстрата. Количество доступного субстрата определяет вероятность однонаправленного апикального роста. Другая, биохимическая, часть модели позволяет описать скорость транспорта ресурсов в клетку, перенос их внутри мицелия, а также их экскрецию и предназначена для описания вертикальной и горизонтальной миграции в почве сразу двух биофильных элементов. Предложенная модель позволяет количественно описать такую особенность роста грибной колонии, как более активное поглощение ресурсов внешними клетками, по сравнению с центральными за счет разделения транспорта ресурсов на активный и пассивный. При этом активный транспорт описывали, используя кинетику Михаэлиса-Ментен. Мы смогли смоделировать запасание избыточных ресурсов и их перераспределение по мицелию после исчерпания запасов во внешней среде, а также имитировать типичные рисунки роста мицелиальных колоний, которые наблюдались в экспериментах, опубликованных в литературе.

Ключевые слова: клеточный автомат; математическое моделирование; модель роста мицелия; рост гриба; микология; экология; кинетика Михаэлиса-Ментен; ветвление гриба; транспорт веществ внутри гриба; мицелиальные грибы; биотехнология; пассивное всасывание; активное всасывание; апикальный рост.

Введение

Мицелиальные грибы – важный компонент почвенной микробиоты. На 1 грамм почвы может приходиться до 16 километров грибного мицелия [1]. Сапротрофные грибы участвуют в процессах ферментативного разложения органического вещества почвы ускоряя процессы минерализации азота и фосфора в почве. Кроме этого мицелиальные грибы могут перемещать питательные элементы (азот, углерод, фосфор) по гифам в удаленные участки мицелия, тем самым выравнивая неоднородность среды по ресурсам.

Цель математического моделирования – не только создать систему математических уравнений, которая объясняет и предсказывает поведение реальных систем, но и сделать это как можно более простым способом, так, чтобы можно было легко проверить функциональность структуры модели и верифицировать параметры модели относительно экспериментальных данных используя статистические методы [2].

Существующие простые модели роста грибного мицелия различаются в зависимости от уровня детализации описания происходящих процессов и пространственной структуры гиф [3]. Такие модели

можно разделить на колоний-ориентированные модели (КОМ) – описывающие процессы роста с помощью системы математических уравнений, но не позволяющие количественно описать (а значит и визуализировать) рост каждой отдельной гифы; гиф-ориентированные модели (ГОМ), позволяющие визуализировать рост каждой гифы; а также биохимически-ориентированные (БОМ) модели [4]. Последние включают описание биохимических и ростовых процессов на уровне одной гифы используются для описания поведения целого мицелия. Наиболее детальные модели, которые мы относим к биохимически-ориентированным, редки и не верифицированы.

Описание пространственного роста мицелия с помощью КОМ требует использования дискретной математики (уравнений в частных производных), что сильно усложняет задачу. Эту проблему решают, вводя уравнения КОМ в состав ГОМ, функционирующих на основе так называемых клеточных автоматов (КА). Клеточный автомат в общем виде представляет собой упорядоченное множество конечных автоматов, обменивающихся информацией с соседними автоматами. Дискретная модель на основе КА включает регулярную решётку ячеек, каждая из которых может находиться в одном из конечного множества состояний, определяемых правилами, такими как выбор: 1 и 0, правда и ложь; любой вид числа, функция принимающее конкретное значение для данного временного шага (в этом случае устанавливается связь с функциональной моделью). Решетка КА может быть любой размерности. Состояние одной клетки определяется множеством соседних клеток от состояния которых зависит состояние данной клетки в следующем временном шаге. Применение модели типа клеточного автомата упрощает описание распространения мицелия в пространстве, которое легко может быть визуализировано, например, в виде двухмерной сетки. Индивидуально-ориентированные дискретные вероятностные ГОМ рассматриваются как совокупность многих десятков моделей мицелий-ориентированного подхода (синоним КОМ). К каждой отдельной подмодели могут быть применены уравнения мицеллярной КОМ, только не в масштабе всей колонии, а для одной клетки мицелия или группы клеток с одинаковыми свойствами (гифы). Так как в этом случае не нужно моделировать распространение клеток, эти уравнения можно упростить. Благодаря этому КА стали широко использоваться, являясь примером совместного использования КОМ и ГОМ: внутри клеток автомата используются уравнения КОМ. Однако такой подход хоть и позволяет использовать относительно простую математику, но добавляет новую проблему. Индивидуально-ориентированные вероятностные модели могут быть получены только на основе экспериментов с недостатком ресурсов в среде [2].

С помощью КА удалось достаточно просто смоделировать рост грибного мицелия в средах, различающихся не только по количеству ресурсов для роста в пространстве, но и по другим характеристикам: пористости [5] или кислотности [6]. Были разработаны также простые трехмерные модели без сложных формул, характерных для отдельно используемых ГОМ и БОМ [7].

Нам не встретилось моделей, которые бы совмещали в себе достоинства КОМ, ГОМ и БОМ подходов. Также не существует моделей транспорта сразу нескольких элементов по мицелию гриба использующих КА.

Потому целью данной работы являлось моделирование роста и пространственной структуры мицелия грибов, и вертикальной и горизонтальной миграции элементов питания в среде на основе синтеза трех модельных подходов (КОМ, ГОМ и БОМ) в модели КА.

Описание модели

Основываясь на литературных данных, мы сформулировали алгоритмы модели, которые позволяют воспроизвести характер роста грибной колонии, имитируя скорость роста и правила ветвления мицелия, а также прекращение роста или вымирание сердцевины колонии после ее распространения. Затем мы дополнили КА, описывающий механизм распространения гиф (и легко визуализируемый), механизмом передачи ресурсов по колонии.

В результате начального этапа работы (создание модели КА) были сформулированы алгоритмы негативного автотропизма, апикального роста и ветвления для мицелия. Дополненная модель состоит из двух блоков – структурного и метаболического. Структурный блок содержит правила распространения мицелия в пространстве: геометрию роста гриба, параметры ветвления, его скорость роста. Метаболический блок отвечает за моделирование всасывания, усвоения и переноса ресурсов; он описывает, среди прочего, и возможную экскрецию ресурсов во внешнюю среду. Во внешнюю среду элементы могут переноситься при дыхании и экскреции экзоферментов.

Структурный блок легко верифицируем, так как скорость роста, рисунок роста, ветвление можно легко наблюдать и сравнить в численном и реальном экспериментах. Метаболический блок можно верифицировать только с помощью постановки специальных экспериментов или относительно опубликованных данных, которые обычно неточно соответствуют заданным условиям и алгоритмам модели.

Нами были выбраны следующие параметры для инициализации структурного блока: минимальное количество ресурса, при котором мицелий растет на 10 мм в день равнялось 0,008 в процентах от веса всего субстрата – % максимального субстрата (мс). Субстрат может быть почвой, подстилкой, жидкостью, агаром. Значение внешних ресурсов в клетке, ниже которого наступает голодная смерть, – 0,0001 % мс [2, с. 240]. Константа Михаэлиса для процесса поглощения ресурса грибом была выбрана равной 6×10^{-5} весовых процентов ресурса на одну клетку автомата [8; 9].

Для размножения, деления грибной клетки выбирается соседняя незанятая ячейка клеточного автомата с самым большим ресурсом. Если среда гомогенна, то ячеек с большим ресурсом может быть много. Из этого множества грибок выбирает один случайным образом. Когда грибок оказывается в бедной среде, он пытается найти среду, богатую ресурсами. Эта задача может быть выполнена с помощью быстрого прямолинейного роста без ветвления. Механизм однонаправленного роста мицелия называется апикальным. Ветвление же выбирается при большем количестве ресурсов. Логика роста отражена на рис. 1.

Выбор между алгоритмами линейного роста и ветвления в структурном блоке происходит в зависимости от доступности ресурсов [10, 11]. Так, пороговая концентрация азота, одного из субстратов, выбранных для параметризации модели, выше которой происходит ветвление мицелия, была выбрана равной 1 % мс [3]. Кроме этого, в модель включили алгоритм негативного автотропизма, который задает

направление роста гиф таким образом, чтобы гифы не могли «слипаться», сталкиваться друг с другом. Внешние гифы в колонии потребляют ресурсы на пять порядков быстрее внутренних. Это происходит из-за инкапсуляции зрелых гиф. Гифы грибов могут потреблять больше ресурсов, чем нужно на данный момент, а также могут расти в условиях нехватки ресурсов. Это достигается с помощью введения так называемого материнско-дочернего механизма. Некоторые зрелые гифы могут стать материнскими клетками, куда соседние клетки мицелия транспортируют элементы питания в случае избытка или откуда они берут ресурсы в случае их недостатка в среде.

Результаты и обсуждение

Для грибов, растущих на материнской твердой породе, которая еще не является почвой, максимальная скорость роста одной гифы в длину различается на порядки. Однако для грибов в почве скорости роста отличаются лишь в разы [12]. В целом можно найти медиану для скорости роста большинства почвенных грибов, а также ее максимальное значение. Для почвы максимальное значение не превышает 5 мм в час. С одной стороны, чем больше ресурсов, тем выше площадной рост мицелия. С другой стороны, чем меньше ресурсов, тем быстрее апикальный рост [13]. При увеличении количества ресурсов в среде увеличивается ветвистость, то есть замедляется линейное продвижение мицелия. В итоге, при увеличении количества ресурсов в среде скорость распространения мицелия может повышаться, и понижаться одновременно. Это противоречие может быть снято пересчетом линейно скорости роста на скорость увеличения биомассы. Ведь линейный рост мицелия может происходить за счет гиф различного диаметра. То есть при увеличении мицелия на единицу длины может прирасти разное количество биомассы. В связи с этим, даже если увеличение концентрации ресурсов в среде и приводит к понижению линейной скорости роста, то биомасса отреагирует может увеличиваться из-за увеличения ветвления или диаметра гиф.

Если же не рассчитывать биомассу, как в большинстве моделей КА, то следует придерживаться эмпирического правила, согласно которому при увеличении количества ресурсов в среде гифы покрывают большую площадь и количество выросших гиф становится больше. При меньшей же концентрации

элементов питания количество нарастающих гиф меньше, но они покрывают большее расстояние по прямой (то есть апикальная скорость выше). Однако при этом средняя скорость роста каждой гифы остается постоянной. Но при ветвлении, вызванным высоким количеством ресурсов, гифы чаще поворачивают, потому проходят меньшее расстояние по прямой.

Исходя из всего этого, на первом этапе моделирования скорость роста гриба была выбрана постоянной. Мы приняли, что средняя скорость роста гриба при оптимальных условиях на различных субстратах – приблизительно равна 0,5–3 мм в час, или 1 см в день [14–21].

Параметризация структурного блока показала, что полученная модель отражает закономерности рисунка роста и ветвления мицелия, потребления и траты биогенных элементов в случае роста мицелия гриба в лабораторных условиях в агаре [5] и также роста в почве [2]. В случае роста в агаре, модель может повторить рисунок роста триходермы, а в случае роста в почве модель может воспроизводить так называемые «ведьмины кольца». Кроме того, она хорошо воспроизводит время жизни мицелия и скорость покрытия поверхности субстрата мицелием для нескольких типов экспериментальных данных.

Интересно отметить противоречие в определении того, что находится внутри «ведьминых колец». По одним данным, это лишённая растительности площадь [22], по другим [23] – на ней, наоборот, растёт густая трава. В первом случае центр колонии живёт и высасывает из почвы ресурсы, а во втором случае он отмирает и удобряет землю. И тот и другой случай формирования «ведьминых колец» можно повторить, используя предложенную модель.

На втором этапе параметризации модели мы добивались повторения более сложного рисунка роста мицелия. Так, в случае роста в агаре [24], модель успешно повторила рисунок роста триходермы, полученный в сложно устроенном эксперименте. В этом случае триходерма росла из средней ячейки пластины агара, порезанного на 9 частей. Через неделю мицелий пророс в виде креста в соседние ячейки в большинстве экспериментов, хотя в некоторых наблюдался рост сразу во все ячейки (рис. 2). На рисунке 3 показаны результаты моделирования, отражающие успешность использованного подхода.

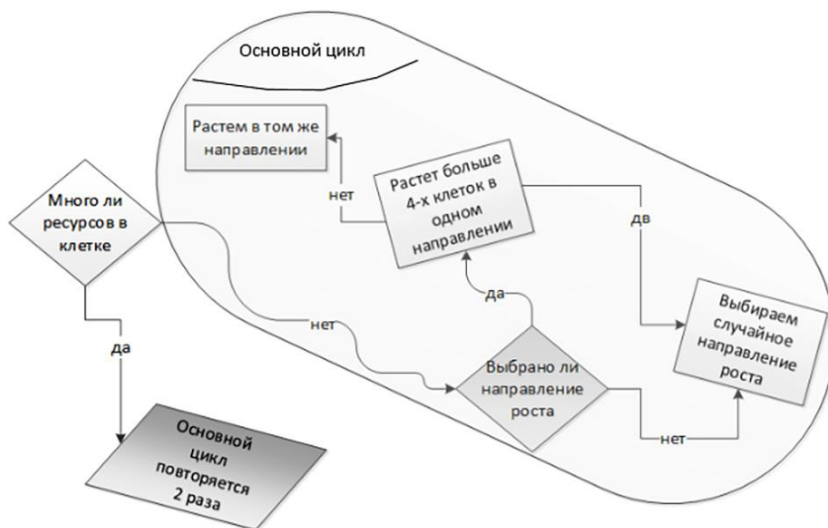


Рисунок 1 – Логика апикального роста и ветвления

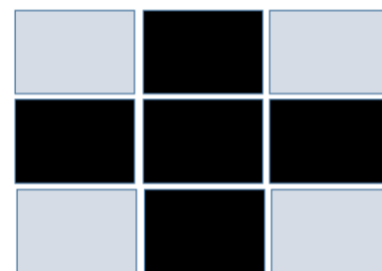


Рисунок 2 – Рост триходермы крестом в системе агар – воздушные ловушки. Темные клетки – агар, более светлые (серые) – мицелий; белое пространство между темными блоками – воздушные ловушки

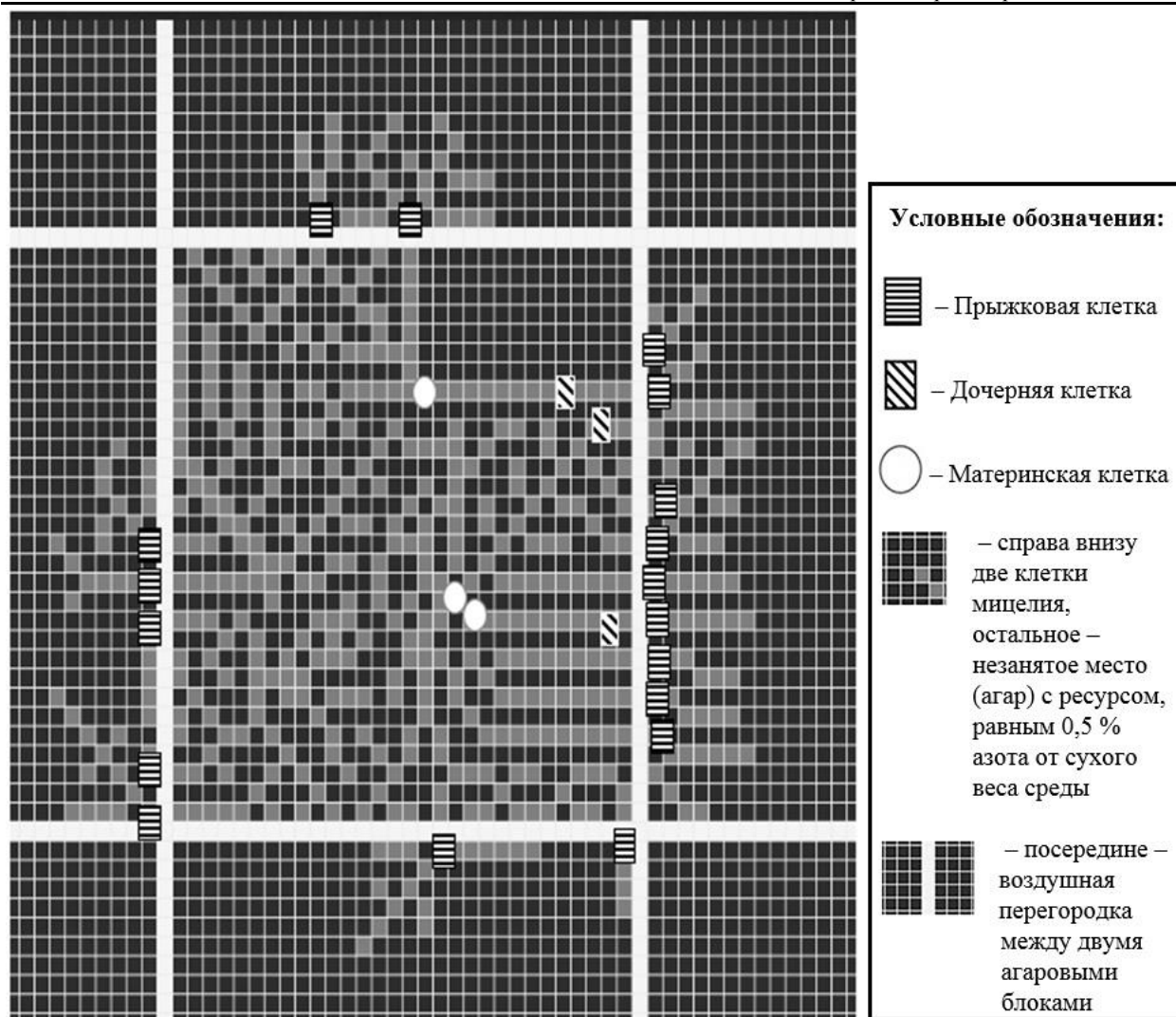


Рисунок 3 – Рост мицелия крестом в модели

Добавление метаболической подмодели в КА сделало возможным описание транспорта ресурсов по мицелию. Количество переносимых ресурсов (азота или фосфора) зависит от параметров, включенных в формулу и в настоящий момент верифицируется в отдельных экспериментах (или же согласно литературным данным). Параметризация метаболической подмодели проводится на основании данных по транспорту фосфора и азота по мицелию гриба в микоризе опубликованных в статье [25].

При пересчете опубликованных данных в единицы размерности, используемой в нашей модели, получаем, что за 3 дня фосфор, перемещенный по мицелию, составил 0,003489 от массы почвы (0,1 % мп) на одну десятую мм гифы гриба в процентах. Предполагается, что 10% гиф инсулированы и что, согласно статье С.Kaiser [26], поток фосфора через растение настолько быстр, что он не может быть лимитирующим фактором в модели взаимодействия корень – мицелий в микоризе. Исходя из этих данных, мы планируем верифицировать формулу переноса фосфора мицелием.

Выводы

Полученная в результате модель повторяет рисунок мицелия, потребления и траты ресурсов, как в случае роста гриба в агаре [5], так и его роста в почве [2]. Кроме того, программа реалистично отражает время жизни и скорость распространения по поверх-

ности гриба для нескольких типов экспериментальных данных. Для достижения поставленной цели в части точного описания транспорта элементов минерального питания мицелием в почве планируется доработать метаболическую часть модели согласно последним литературным данным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Добровольский Г.В. Педосфера – оболочка жизни планеты Земля // Биосфера. 2009. Т. 1, № 1. С. 6–14.
2. Dix N.J., Webster J. Fungal ecology. Springer-Science+Business Media, 1995. 549 p.
3. Hofsten B.V., Rydéean A.L. Submerged cultivation of a thermotolerant basidiomycete on cereal flours and other substrates // Biotechnology and Bioengineering. 1975. Vol. 17 (8). P. 1183–1197.
4. Alton L. The viability of microscopic fungal cultures from soddy-podzolic soil at different temperatures of sea and river water // Microbiology. Vol. 52. P. 482–485.
5. Ritz K., Young I.M. Interactions between soil structure and fungi // Mycologist. 2004. Vol. 18 (2). P. 52–59.
6. Jacobs H., et al. Solubilization of calcium phosphate as a consequence of carbon translocation by *Rhizoctonia solani* // FEMS Microbiology Ecology. 2002. Vol. 40 (1). P. 65–71.

7. Boswell G.P. Modelling mycelial networks in structured environments // *Mycological research*. 2008. Vol. 112 (9). P. 1015–1025.
8. Boswell G.P., Hopkins S. Linking hyphal growth to colony dynamics: spatially explicit models of mycelia // *Fungal Ecology*. 2008. № 1 (4). P. 143–154.
9. Regalado C.M., Sleeman B.D., Ritz K. Aggregation and collapse of fungal wall vesicles in hyphal tips: a model for the origin of the Spitzenkörper // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 1997. Vol. 352 (1364). P. 1963–1974.
10. Szabo R., Štofániková V. Presence of organic sources of nitrogen is critical for filament formation and pH-dependent morphogenesis in *Yarrowia lipolytica* // *FEMS microbiology letters*. 2002. Vol. 206 (1). P. 45–50.
11. Gbolagade J., et al. Effect of physico-chemical factors and semi-synthetic media on vegetative growth of *Lentinus subnudus* (Berk.), an edible mushroom from Nigeria // *Food chemistry*. 2006. Vol. 99 (4). P. 742–747.
12. Вигонт В.А., Миронычева Е.С., Топаж А.Г. Модификация модели роста грибов Чантера-Торнли и ее анализ средствами многоподходного имитационного моделирования // *Компьютерные исследования и моделирование*. 2015. № 7 (2). С. 375–385.
13. Stadler D.R. Chemotropism in *Rhizopus nigricans*: the staling reaction // *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. 1952. Vol. 39 (3). P. 449–474.
14. Meyer A., et al. Simulating mycorrhiza contribution to forest C-and N cycling-the Mycofon model // *Plant and soil*. 2010. Vol. 327 (1–2). P. 493–517.
15. Семенов А.Я., Абрамова Л.П., Хохряков М.К. Определитель паразитных грибов на плодах и семенах культурных растений. Л.: Колос: Ленингр. отделение, 1980. 302 с.
16. Сычёв П.А., Ткаченко Н.П. Грибы и грибоводство. М.: АСТ-Сталкер, 2003. 511 с.
17. Davidson F.A. Mathematical modelling of mycelia: a question of scale // *Fungal Biology Reviews*, 2007. № 21 (1). P. 30–41.
18. Кураков А.В., Харин С.А. Взаимодействия грибов и дождевых червей // Биотические связи грибов: мосты между царствами: мат-лы VII всерос. микологической школы-конф. с междунар. уч. М.: МГУ, 2015. С. 67–105.
19. Федоровская Г.И. Грибная энциклопедия. М.: Рипол-Классик, 2002. 574 с.
20. Ryan F.J., Beadle G., Tatum E. The tube method of measuring the growth rate of *Neurospora* // *American Journal of Botany*. 1943. P. 784–799.
21. Madkour S., et al. Effect of treatment with industrial waste water on the growth and pathogenicity of some soil-borne fungi // *Journal of Agricultural Sciences Mansoura University*. 1991. Vol. 16, 3. P. 598–614.
22. Gow N., et al. The fungal colony // Cambridge University Press 2007. Vol. 21.
23. Горбунова И.А. Макромицеты Приобских болот // *Сибирский ботанический вестник*. 2007. № 2 (1). С. 41–50.
24. Ritz K. Growth responses of some soil fungi to spatially heterogeneous nutrients // *FEMS Microbiology Ecology*. 1995. Vol. 16 (4). P. 269–279.
25. Ames R., et al. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus // *New Phytologist*. 1983. Vol. 95 (3). P. 381–396.
26. Kaiser C., et al. Microbial community dynamics alleviate stoichiometric constraints during litter decay // *Ecology letters*. 2014. Vol. 17 (6). P. 680–690.

MODELING OF FUNGAL MYCELIUM GROWTH BY FOURTH-CLASS CONTINUOUS STOCHASTIC CELLULAR AUTOMATON WITH CONTINUOUSLY DEFINED GROWTH CONDITIONS

© 2017

Shumilov Anatoliy Sergeevich, postgraduate student,
junior researcher of Mathematical Modeling of Ecosystems Laboratory
Blagodatsky Sergey Alexandrovich, doctor of biological sciences,
leading researcher of Soil Nitrogen and Carbon Cycles Laboratory
*Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science of Russian Academy of Sciences
(Pushchino, Moscow Region, Russian Federation)*

Abstract. The aim of this work was to simulate the growth and spatial structure of the fungal mycelium using a cellular automaton based on the synthesis of various model approaches. The spatial structure of the mycelium is described in the structural submodel of the cellular automaton, which determines the growth rate in the direction of larger resource amount and the number of branches of the mycelium per area unit. The amount of available substrate determines the probability of unidirectional apical growth. Another, biochemical part of the model allows us to describe the rate of transport of resources into the cell, their transport within the mycelium, and also their excretion, and is intended to describe the vertical and horizontal migration in the soil of two nutrients. The proposed model makes it possible to quantitatively describe such a feature of fungal colony growth as more active absorption of resources by external cells, compared to central ones due to separation of transport resources into active and passive resources. The active transport was described using the Michaelis-Menten kinetics. We were able to simulate the stockpiling of surplus resources and their redistribution over the mycelium after the exhaustion of reserves in the external environment, and also to simulate typical growth patterns of mycelial colonies that were observed in experiments published in the literature.

Keywords: cellular automata; mathematical modeling; growth pattern of mycelium growth of the fungus; mycology; ecology; Michaelis-Menten kinetics; branching of fungus; transport of substances inside of the mushroom; mushrooms mialaria; biotechnology; passive absorption; active absorption; apical growth.