

11. Шарков И.Н. Метод оценки потребности в органических удобрениях для создания бездефицитного баланса углерода в почве // Агрохимия. 1986. №2. С.109-118.

12. Шарков И.Н. Совершенствование концепции воспроизводства органического вещества в почвах зерновых агроценозов Сибири // Си-бирский вестник с/х науки. 2003. №2. С.72-77.

13. Anderson T.-H., Domsgh K.H. Application of eco-physiological quotient ( $qCO_2, qD$ ) on microbial biomass from soils of different cropping histories // Soil Biol. and Biochem. 1990. Vol. 22, № 2. P. 251-255.

14. Insam H., Ohlinger R. Ecophysiological parameters/ Methods in soil biology /Franz Schinner et al (eds). Springer-Verlag Heidelberg, 1996. P. 306-309.

### НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПЕРЕРАБОТКЕ ШЛАМОВ УГОЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ: ПОЛУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ГУМИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ

О.И. Кляйн, Е.В. Степанова, Н.А. Куликова\*, Е.О. Ландесман,  
В.В. Супренюк, О.В. Королева

Институт биохимии РАН им. А.Н. Баха, Москва

\*МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет почвоведения  
klein\_olga@list.ru

#### Ведение

В настоящее время в мире растет интерес к разработке биотехнологических процессов, направленных на переработку и использование шламов угольной промышленности, представляющих собой низкоэнергетические бурые угли. Попытки использования таких отходов для получения удобрений были впервые предприняты в 60-е годы. Созданный на основе бурого угля препарат гумата натрия является ближайшим аналогом природных гуминовых веществ (ГВ). Однако повышение урожайности и улучшение питательного режима почвы при использовании данного препарата остается незначительным. Одним из путей решения этой проблемы является получение модифицированных гуминовых веществ с улучшенными свойствами в результате биodeградации угля с помощью микроорганизмов, в частности базидиальных грибов.

Целью проводимой работы является разработка подходов микробиологической конверсии шламов угольной промышленности, позволяющей получать физиологически активные гуминоподобные вещества из вторичного угольного сырья с использованием базидиальных грибов.

### Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали штамм базидиальных грибов *Coriolus hirsutus* 075 (Wulf. Ex. Fr) Quel. семейства *Polyporaceae*, а также синтезируемые ими внеклеточные ферменты. В качестве бурого угля использовали уголь Солнцевского месторождения (Сахалин).

Жидкофазное поверхностное культивирование грибов проводили в колбах объемом 250 мл, куда добавляли навеску измельченного угля (размер частиц не превышал 1 мм) 5 г, 50 мл питательной среды и мицелий, размельченный керамическими бусами. Культивирование осуществляли при температуре 27-28°C в темной аэрируемой камере. При проведении экспериментов исследовали два варианта: бедную и богатую среды, различающихся наличием или отсутствием, легко усвояемого источника углерода, глюкозы. Субстраты перед засевом автоклавировали при 120°C и 1 атм. в течение 1 ч. В ходе культивирования проводили мониторинг изменения биомассы грибов, а также динамику изменения массы угля.

По окончании эксперимента проводили оценку биологической активности культуральной жидкости с использованием биотеста по методу проростков. В качестве тест-культуры использовали проростки мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта «Московская-35», а в качестве тест-отклика – длину вершков и корешков растений после 72 ч проращивания на исследуемых средах в термостате при температуре 24°C.

### Обсуждение результатов

*Динамика накопления биомассы Coriolus hirsutus на бедной и богатой средах.*

При проведении экспериментов, нами было установлено, что внесение угля в среду культивирования базидиальных грибов приводит к значительному увеличению биомассы последних (табл. 1). Особенно ярко выраженный рост биомассы грибов наблюдали на богатой среде, где биомасса грибов превышала контрольную в 60 раз. Правомочно предположить, что грибы использовали уголь, как дополнительный источник углерода. Однако нельзя исключить также и возможности активации роста гриба веществами, образующимися при биотрансформации угля.

Таблица 1. Биомасса мицелия при культивировании *Coriolus hirsutus* на бедной и богатой питательных средах в присутствии и отсутствии угля

Вариант	Биомасса, г	Увеличение биомассы по отношению к контролю, раз
Бедная среда с углем	0,5253	14,4
Богатая среда с углем	0,6477	60
Контроль бедная среда	0,0365	—
Контроль богатая среда	0,0108	—

*Анализ уменьшения массы угля при культивировании Coriolus hirsutus.* Нами было установлено, что в процессе термической обработки угля при его стерилизации перед началом экспериментов во всех вариантах (бедная и богатая среда) раствор окрашивался в слабо коричневый цвет. Как показал анализ массы угля, его вес уменьшился практически на 40%. Поэтому расчет убыли массы угля в процессе эксперимента рассчитывали не от начальной навески, а от контроля, под которым в данном случае подразумевали массу угля, оставшуюся после автоклавирования. Наибольшее уменьшение массы наблюдали при культивировании *Coriolus hirsutus* на бедной среде: оно составило 17%, что указывает на использование угля грибом как источника углерода и на возможную модификацию его поверхностных групп.

Таблица 2. Изменение массы буроуголя при культивировании *Coriolus hirsutus* на бедной и богатой питательных средах

Вариант	Изменение массы угля после культивирования, % от контроля
Бедная среда с углем	83
Богатая среда с углем	90

*Оценка биологической активности культуральной жидкости Coriolus hirsutus.* Оценка биологической активности культуральной жидкости была проведена с помощью биотестирования по методу проростков. Результаты представлены на рис. 1.

Как видно из рис. 1., культуральная жидкость, содержащая продукты биотрансформации угля, обладала ярко выраженной ауксиноподобной активностью. При этом можно сделать вывод о том, что продукты биотрансформации угля базидиомицетом в значительной степени определяют наблюдаемый стимулирующий эффект. Так, практически во всех случаях культуральная жидкость с продуктами биотрансформации угля характеризовалась большей, по сравнению как со средой без внесения грибов или угля, физиологической активностью. Поэтому можно предположить, что наблюдаемое увеличение биологической активности

обусловлено именно продуктами биотрансформации угля под действием грибов, а не питательными веществами, содержащимися в культуральной жидкости.

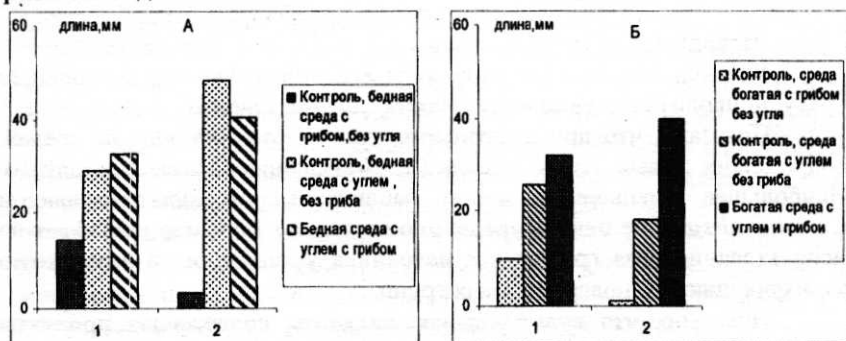


Рис. 1. Влияние бедной (А) и богатой (Б) культуральной жидкости после культивирования *Coriolus hirsutus* в присутствии и отсутствии угля на рост побегов (1) и корней (2) проростков пшеницы.

Сравнение абсолютных величин стимулирующих эффектов культуральных жидкостей, полученных при биотрансформации угля на богатой и бедной средах, показало, что они обладают сходной физиологической активностью (рис. 2).

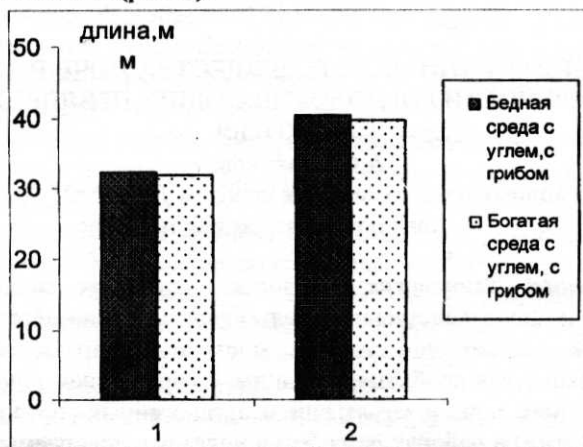


Рис. 2. Влияние бедной и богатой культуральной жидкости после культивирования *Coriolus hirsutus* в присутствии угля на рост побегов (1) и корней (2) проростков пшеницы.

Поэтому можно сделать вывод о том, что для получения биологически активных продуктов биотрансформации угля можно рекомендовать использование более дешевой бедной среды.

### **Выводы**

Установлено, что внесение угля как в богатую, так и в бедную среду, приводит к стимуляции роста *Coriolus hirsutus*

Показано, что при культивировании *Coriolus hirsutus* на средах, содержащих бурый уголь, приводит к уменьшению массы последнего. Наибольшее уменьшение массы наблюдали при культивировании *Coriolus hirsutus* на бедной среде: оно составило 17%, что указывает на использование угля грибом как источника углерода и на возможную модификацию его поверхностных групп.

Показано, что культуральная жидкость, содержащая продукты биотрансформации угля под действием грибов, обладает выраженной стимулирующей активностью по отношению к проросткам пшеницы.

На основании проведенных экспериментов предложено использовать для получения биологически активных продуктов биотрансформации угля более дешевой бедной среды культивирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке МНТЦ. Проект 993.2

## **СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧВ В РАЙОНАХ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ГОРНОДОБЫВАЮЩИХ ПРЕДПРИЯТИЙ ПРИОХОТЬЯ**

**А.Ф. Махинова**

Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, Хабаровск,  
[mahinova@ivep.as.khb.ru](mailto:mahinova@ivep.as.khb.ru)

**Введение.** Технология разработки коренных месторождений Приохотья и производственная деятельность горно-обогатительных предприятий создает комплексное многокомпонентное загрязнение почв. Экологическая проблема, связанная с нарушением почвенных ресурсов (изъятием почв и загрязнением органогенных горизонтов тяжелыми металлами) в районах разработки полезных ископаемых приобретает все большую остроту и актуальность [2].

Традиционная схема получения продукта из руды (добыча руды, транспортировка и переработка на ГОК, обогащение концентрата и по-