

ОБНАРУЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИГНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ У МИКРОМИЦЕТОВ УГОЛЬНЫХ ОТВАЛОВ В УСЛОВИЯХ АРКТИКИ (ШПИЦБЕРГЕН)

Ильюшин В.А., Кирцидели И.Ю.

*Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург,
ilva94@yandex.ru*

Сегодня становится актуальной проблема промышленного загрязнения окружающей среды. В результате человеческой деятельности, природные экосистемы замещаются техногенными [2]. Увеличение добычи угля неизбежно связано с интенсивным воздействием на почвенный покров, вплоть до его уничтожения, а также формированию угольных отвалов, терриконов, карьеров и т.д.

При добыче каменного угля образуются значительные площади породных отвалов. Рекультивация этих земель является актуальной экологической проблемой [6]. Особенно актуальным является этот вопрос в условиях Арктики, где биологические процессы протекают крайне медленно.

Традиционные методы рекультивации, как правило, дорогостоящи или не всегда эффективны [4]. Поэтому в настоящее время находит все большее применение биологическая деградация угля с помощью микроорганизмов, в том числе и микромицетов. Ферменты микроскопических грибов, участвующие в деструкции угля, главным образом, относятся к лигнолитической группе, среди которых значимыми являются марганец зависимые пероксидазы (MnP, EC 1.11.1.13) и лакказы (полифенолоксидаза, Lcc, EC 1.10.3.2) [3].

Целью исследования было изучение динамики комплексов микроскопических грибов угольных отвалов в процессе их зарастания в условиях Арктики (Шпицберген), а также обнаружение и изучение активности лигнолитических ферментов у выделенных штаммов микромицетов.

Для изучения комплексов микромицетов и их ферментативной активности были отобраны образцы породы из угольных отвалов вблизи поселка Баренцбург (Шпицберген) (78°03'51" с. ш., 14°11'09" в. д.). Возрастов отвалов составляет 1-, 10-, 30- и 50-лет.

Чистые культуры грибов выделяли на агаризованной среде Чапека (CZA) при температуре 20°C и 5°C, в темноте. Предварительную таксономическую принадлежность выделенных микроскопических грибов определяли на основании культурально-морфологических признаков [5]. Также была проведена молекулярная идентификация изолятов. В качестве филогенетического маркера использовали последовательность региона ITS [7]. Получение чистой культуры подтверждали микроскопическими методами. Лигнолитическую активность штаммов определяли реакцией Бавендамма, используемой для быстрого отбора грибов. В качестве субстрата использовали

танин, который добавляли к среде Чапека в концентрации 0,2%. О выделении лигнолитических ферментов судили на основании появления пигмента в среде в процессе роста гриба. Тест считали положительным при появлении окрашенной зоны агара за пределами роста колонии [1].

Всего из исследованных образцов было выделено 204 изолята, принадлежащих к 30 родам и 53 видам. Наибольшее число видов (13), принадлежит роду *Penicillium*. Роды *Cadophora* и *Trichoderma* были представлены 4 видами. Доминирующими видами в отвалах разных возрастов являются виды *Cosmospora berkeleyana* и *Pseudogymnoascus pannorum*. Видовое разнообразие комплексов микромицетов угольных отвалов постепенно увеличивалось с возрастом отвалов. Если в породах отвалов угольной шахты возрастом 1 год нами обнаружено только 6 видов микроскопических грибов, то в отвалах 50-ти летней давности — уже 20 видов.

Лигнолитической активностью обладал изоляты 12 видов микроскопических грибов (23% видов составляющих комплексы микроскопических грибов в отвалах). Наибольшая активность лигнолитических ферментов была обнаружена у штаммов, принадлежащих к видам *Trichocladium asperum*, *Hyaloscypha hepaticicola*, *Cadophora fastigiata* и *Cadophora malorum*.

Следует отметить, что в отвалах 1 года и в 10-летних отвалах преобладали микроскопические грибы с «темноцветным» мицелием, которые обладали ферментативной активностью. В то время как в отвалах 30- и 50 лет преобладали микроскопические грибы с неокрашенным мицелием и не обладающие активностью лигнолитических ферментов, например, представители родов *Penicillium* и *Talaromyces*.

В дальнейшем планируется оценка биотехнологического потенциала выделенных микромицетов.

Литература

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев: "Наукова думка", 1982. 550 с.
2. Егорова Л. Н., Щапова Л. Н., Ковалева Г. В., Полохин О. В. Почвенные микромицеты техногенных ландшафтов на юге Приморского края // Микология и фитопатология. 2013. Т. 47(4). С. 218–222.
3. Кляйн О.И. и др. Трансформация гуминовых веществ высокоокисленного бурого угля базидиальными грибами *Trametes hirsuta* и *Trametes maxima* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2013. – Т. 49, № 3. – С. 292–300.
4. Bratkovskaya I., Ivanec R., Kulys J. Mediator Assisted Laccase Catalyzed Oxidation of 4 Hydroxybiphenyl // Biokhimiya. – 2006. – Vol. 71 (5). – P. 681–686.
5. Domsch K. H., Gams W.; Anderson T.-H. Compendium of soil fungi. IHWVerlag. Eching. 2007. 672 p.
6. Rdzanek M. Airborne bacteria and fungi in a coal mine in Poland // Journal of Cave and Karst Studies. 2015. Vol. 77. № 3. P. 177–182.

7. White T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // Academic Press, London, UK. – 1990. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. – P. 315–322.