

© М.И. ДИНУ, Т.Н. ГУБЕРНАТОРОВА

fulva@rambler.ru, tatiana.ivp.ran@gmail.com

УДК 574.64

**ОСНОВНЫЕ ПУТИ РАЗЛОЖЕНИЯ И ТРАНСФОРМАЦИИ  
ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ ПОЧВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ  
ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ\***

*АННОТАЦИЯ.* Гуминовые вещества являются одним из основных резервуаров углерода в биосфере, контролируют биогеохимический цикл органического углерода на глобальном уровне. Игрют решающую роль в окислительно-восстановительных процессах, в процессах сорбции, комплексообразования, переноса загрязняющих веществ, минеральных соединений и микроэлементов, в процессах поддержания и роста растений, входят в состав почвы участвуют в процессах ее формирования. Гуминовые соединения чрезвычайно важны для природных процессов. Сапротрофные грибы принимают активное участие в процессах деструкции гуминовых соединений. Наиболее важными представителями являются базидиомицеты и аскомицеты. Базидиальные грибы принимают участие в процессах деструкции и минерализации стойкого органического вещества, а грибы аскомицеты в основном участвуют в процессах модификации и полимеризации гуминовых соединений. Механизм деградации связан с вовлечением в процесс широкого спектра неспецифичных окислительных ферментов, особенно широко известных ферментов из группы лигнолитических экзоферментов-деструкторов: лигнинпероксидаза, марганецпероксидаза, лакказы. В обзоре обсуждаются проблемы актуальности и малоизученности процессов биодеструкции гумусовых веществ под действием ферментных комплексов грибов в окружающей среде.

*SUMMARY.* Humic substances are one of the main accumulators for carbon in the biosphere. They control the global biogeochemical cycle of organic carbon. They also play a crucial role in reduction-oxidation, sorption, complexation, transfer of contaminants and microelements, plant growth. Humic substances are found in the soil and take part in its formation. Humic compounds are important for many natural processes. Saprotrophic fungi actively contribute to humic compounds degradation. The most important representatives are basidiomycetes and ascomycetes. Basidial fungi take part in the process of persistent organics destruction and mineralization, while ascomycetes basically modify and polarize humic substances. The degradation mechanism

\* Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-05-31429 мол\_а «Экспериментальное изучение механизмов и кинетики биодеструкции гумусовых веществ в водной среде».

*is connected with a wide spectrum of nonspecific oxidative enzymes, especially the lignolytic exoenzymes-destroyers: lignin-peroxidase, manganese-peroxidase, laccase. The article observes the important and scarcely studied issues of humic substance biodegradation by fungi enzymes.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА.** Гумусовые вещества, биодеструкция, грибы, ферменты.  
**KEY WORDS.** Humic substances, biodegradation, fungi, enzymes.

В трудах по биогеохимии и геохимии почв В.И. Вернадский отмечал значимость живых организмов в изменении химического состава почв: «Эта роль так велика, что, так или иначе, все процессы в почве связаны с участием живого вещества или продуктов его изменения. В широком понимании этого слова все явления можно считать биохимическими» [1].

Основой почвы являются гумусовые вещества (ГВ), которые относятся к органическим объектам стохастического характера наряду с такими классами соединения как нефть и лигнин [2]. По своей химической природе это рандомизованные полимеры ароматических оксиполикарбоновых кислот [2], [3]. Благодаря специфическому строению (рис. 1) — гидрофобному ароматическому каркасу и богатству функциональными группами — гумусовые вещества проявляют макролигандные свойства. Они образуют комплексы с ионами металлов [4] что определяет, как отмечено в [2], [3], [4] их протекторные свойства в биосфере. Гумусовые вещества являются одним из основных резервуаров углерода в биосфере, содержание которого оценивается порядка  $1600 \cdot 10^{15} \text{ г(С)}$ . Из-за решающей роли ГВ в окислительно-восстановительных процессах, в процессах сорбции, комплексообразования, переноса загрязняющих веществ, минеральных соединений и микроэлементов, в процессах поддержания и роста растений исследование происходящих с ними преобразований — актуальная задача современной геохимии. Стоит добавить, что гумусовые вещества участвуют также в процессах формирования почвы, контролируют биогеохимический цикл органического углерода на глобальном уровне, они чрезвычайно важны для природных процессов, протекающих в окружающей среде в целом.

Деструкция и преобразование гумусовых веществ под действием живых организмов, согласно В.И. Вернадскому, есть «...результат влияния живого вещества или продуктов его изменения на химические процессы почв».

Микроорганизмы, как движущая сила процессов формирования, трансформации, деградаци и минерализации гумусовых веществ, в зависимости от биологических особенностей, характеризуются разными деструктирующими возможностями. Вернадский в своих трудах подчеркивал значимость микроорганизмов в глобальном переносе элементов: «Любопытно, что косвенно живое вещество влияет на перенос нужного почве вещества из атмосферы». Бактерии хотя и доминируют в окружающей среде и участвуют в обороте гумусовых веществ, но их способность разрушать стойкие макромолекулы (более 500 кДа), такие как гумусовые кислоты или лигнин, ограничена [5], [6], [7] и наиболее эффективно они разрушают низкомолекулярные соединения — метаболитов гуминовых кислот и фульвокислот. Грибы, напротив, являются весьма эффективными деструкторами гумусовых веществ. Недавние исследования, описывающие консорциум биопленок, которые питались за счет использования ГВ в качестве источника углерода и энергии, показывают, что биодеструкция происходит в основном в результате побочных процессов или процессов ко-метаболизма [7].

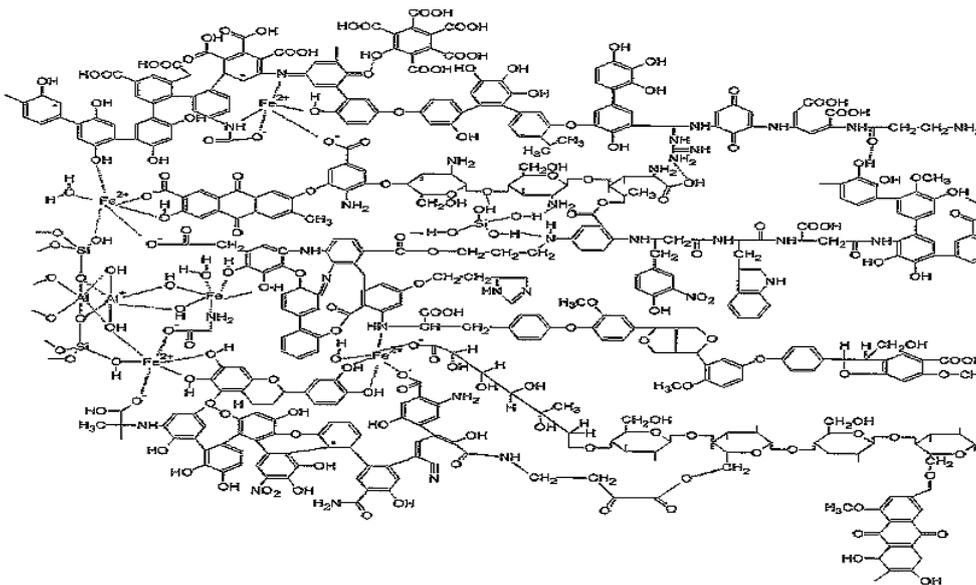


Рис. 1. Фрагмент гумусовых кислот [2]

В природных экосистемах сапротрофные грибы выступают в качестве первичных, вторичных и третичных редуцентов, которые питаются и перерабатывают огромные количества углерода, так же как и других биоэлементов. Они влияют на преемственность растений и стабилизацию почв и, следовательно, занимают центральное место в функционировании наземных экосистем. Тем не менее все еще есть пробелы в знаниях относительно актуального биоразнообразия и функций грибов в процессах деструкции органического вещества. Грибы, принимающие активное участие в процессах биодеструкции, которые осуществляются в основном под действием аскомицетов и базидиомицетов, изучаются многие годы и, тем не менее, их относительная численность и роль в процессе оборота гумусовых веществ еще не вполне ясны. Приблизительно около 8500 описанных видов базидиомицетов являются лигноцеллюлозными деструкторами сапрофитами, и около половины из них встречаются в почве и верхнем слое лесной подстилки [8].

Недавние исследования [9] связанные с глобальным потеплением, показали, что за 6-летний период повышения  $\text{CO}_2$  количество почвенного углерода сократилось вдвое, что обусловлено изменением активности почвенных микробных сообществ. Почвы, содержащие повышенное количество  $\text{CO}_2$ , отличались большим содержанием грибов и ферментов, деструктирующих почвенный углерод, что еще раз подтверждает значение грибов и их роль в обороте гумусовых веществ в природных экосистемах.

Существует множество других результатов исследований деструкции гумусовых веществ под воздействием грибных ферментов. Известно, что из-за крупного размера макромолекулы гумусовых веществ не могут проникать внутрь клеток микроорганизмов, поэтому процесс их биоразложения протекает под действием внеклеточных ферментов [10]. Многие базидиомицеты относятся

к грибам белой гнили, а также к виду грибов-деструкторов лесной подстилки, опада. Большинство фундаментальных исследований, посвященных исследованию неспецифично окислительных ферментов грибов белой гнили, сфокусировано на их роли в процессах биодеструкции лигнина [11]. И все же существуют работы, рассматривающие их важную роль в средах, богатых органическим веществом, в процессах формирования, трансформации и деструкции гумусовых веществ. Кроме того, эти ферменты в последние годы интенсивно изучаются в связи с их способностью деструктировать разнообразные ароматические органические поллютанты [3], [10].

В процессе эволюции грибы белой гнили и грибы, деструктирующие лесную подстилку, характеризуются различными сочетаниями ферментов и ферментных систем с разнообразными свойствами, и поэтому они отличаются между собой и способностью деструктировать стойкую органику, и механизмами действия на макромолекулы [9], [11].

Существуют данные о том, что группы лигнинразрушающих ферментов, приспособленные к процессам неспецифичного окисления, такие как марганецпероксидаза (MnP), лигнинпероксидаза (LiP) и лакказы, участвуют в процессах деструкции и являются наиболее эффективными. Недавние исследования, где была полностью расшифрована геномная последовательность *Phanerochaete chrysosporium*, дали возможность предположить, что в процесс деструкции лигнина вовлекается и ряд других внеклеточных ферментов. Эти ферменты (лигнолитическая система) приводят к образованию неустойчивых соединений (например, фенокси- и карбокси-радикалов), которые затем подвергаются конденсации или полимеризации, что и является процессом гумификации или возможна дальнейшая деградация органических веществ с последующей минерализацией [8].

Пути, по которым протекает ферментативный процесс (деструкция или полимеризация), зависят не только от вовлекаемых ферментов и субстратов, но также от условий среды, таких как pH, влажность, содержание кислорода, электропроводность, а также от наличия других соединений. Из-за уникальной способности неспецифических окислительных ферментов вступать в реакцию с различными ароматическими субстратами, грибы белой гнили являются наиболее эффективными деструкторами гумусовых соединений [10], [12].

Авторы [13] были первыми, кто показал, что грибы белой гнили способны обесцвечивать растворы ГВ и деструктировать макромолекулы гуминовых кислот (НА), **изъятых из подзолистых почв. Кроме того, они отметили, что культивирование в условиях аэрации коррелирует со степенью разложения соединений** [13], [14], что подтверждается во многих других исследованиях, посвященных изучению процессов деструкции лигнина и НА.

В работе [15] показано, что *Trametes versicolor* и *Poria monticola* (грибы бурой гнили) способны деструктировать и растворять бурые угли. Был обнаружен и другой механизм растворения бурого угля под действием грибов, где происходило вовлечение образующихся щелочных метаболитов вследствие ионизации кислотных групп или при вовлечении образующихся хелаторов, которые способны отделять поливалентные ионы от угольной массы, что приводит к их растворению.

Авторы [16] использовали грибы белой гнили *Phanerochaete chrysosporium* и гумусовые соединения, выделенные из моруэльских бурых углей, с помощью различных методов при использовании щелочных растворов. Некоторые из фракций были метилированы (с использованием  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$  и  $\text{CH}_2\text{N}_2$ ) или деметилированы. Было обнаружено, что *P. Chrysosporium* преобразуют около 85% растворенного бурого угля в низкомолекулярные соединения после 16 дней инкубации.

Некоторые другие виды грибов белой гнили, включающие в себя *Nematoloma frowardii* b19, *Clitocybula dusenii* b11, *Auricularia* sp. и базидиомицеты штаммов RBS 1k и RBS 1b также были исследованы в ряде работ, целью которых было выяснить способность этих видов грибов разрушать гумусовые соединения, содержащиеся в угле [17]. Эти грибы были способны разрушать гуминовые кислоты с помощью неспецифично окисляющих ферментов.

Несмотря на огромное количество публикаций, посвященных процессам разрушения гумусовых веществ, достоверного описания количественных и качественных особенностей процесса не найдено. С одной стороны, разносторонне изучены процессы разрушения под воздействием УФ-облучения и пероксисоединений из-за простоты постановки эксперимента и ясности полученных результатов. С другой стороны, проведено множество работ по разрушению синтетических гумусовых веществ под воздействием грибных ферментов, что лишь приблизительно отражает процессы, происходящие в природе. Наиболее значимым с точки зрения современной геохимии является вопрос изучения кинетики биохимической разрушения гумусовых веществ почв под воздействием ферментов, как процесс, наиболее приближенный к природным явлениям, и изменение разрушения вследствие антропогенного влияния — закисление, повышение содержания тяжелых металлов и т.д.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вернадский В.И.. Труды по биогеохимии и геохимии почв. М.: Наука, 1992. 437 с.
2. И.В., Данченко Н.Н. Детоксикация тяжелых металлов, полиароматических углеводородов и пестицидов гумусовыми веществами в водах и почвах // Материалы международного конгресса «Вода: экология и технология». М.: Атлант, 1994. С. 1136-1143.
3. Д.С. Гумусовые кислоты. М.: Изд-во МГУ, 1974. 332 с.
4. И.В. Органическое вещество почв и его роль. М.: Мир, 1965. 319 с.
5. Dehorter, V. Extracellular enzyme activities during humic acid degradation by the white rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor* // FEMS Microbiology Letters. 1992. V. 94. № 3. Pp. 209-215.
6. Esham, E.C., Ye W. Identification and characterization of humic substances-degrading bacterial isolates from an estuarine environment // FEMS Microbiology Letters. 2000. V. 34. Pp. 209-215.
7. Filip, Z., Tesarova, M. Microbial degradation and transformation of humic acids from permanent meadow and forest soils // International Biodeterioration and Biodegradation. 2004. V. 54. Pp. 225-231.
8. O'Brien. The impact of *Lactobacillus plantarum* TUA1490L supernatant on in vitro rumen methanogenesis and fermentation // Anaerobe. 2013. V. 22. Pp. 137-140.
9. Carney, D. Selective stimulation of small cell lung cancer clonal growth by bombesin and gastrin-releasing peptide // Regulatory Peptides. 1987. V. 19. P. 103.

10. Huang, Z., Liers, C. et al. Depolymerization and solubilization of chemically pre-treated powder river basin subbituminous coal by manganese peroxidase (MnP) from *Bjerkandera adusta* // *Fuel*. 2013. V. 112. Pp. 295-301.
11. Higuchi, T. Microbial degradation of lignin: role of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase // *Proceedings of the Japan Academy. Series B. Physical and Biological Sciences* 2004. V. 80. Pp. 204-214.
12. Salar-Behzadi. Impact of heat treatment and spray drying on cellular properties and culturability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 // *Food Research International*. 2013. V. 54. Pp. 93-101.
13. Burges, A., Latter, P. Decomposition of humic acid by fungi // *Nature*. 1960. V. 186. Pp. 404-405.
14. Hurst, H.M., Burges, A., Latter, P. Some aspects of the biochemistry of humic acid decomposition by fungi // *Phytochemistry*. 1962. V. 1. Pp. 227-231.
15. Cohen, M.S., Gabriele, P.D. Degradation of coal by the fungi *Polyporus versicolor* and *Poria monticola* // *Applied and Environmental Microbiology*. 1982. V. 44. Pp. 23-27.
16. Ralph, J.P., Catcheside DEA. Transformations of low rank coal by *Phanerochaete chrysosporium* and other wood-rot fungi // *Fuel Processing Technology*. 1997. V. 52. P. 79-93.
17. Catcheside, DEA; Ralph, J.P. Biological processing of coal // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1999. V. 52. Pp. 16-24.

## REFERENCES

1. Vernadskij, V.I. *Trudy po biogeohimii i geohimii pochv* [Soil biogeochemistry and geochemistry]. Moscow: Nauka, 1992. 437 p. (in Russian).
2. Danchenko, N.N. Heavy metals, polyaromatic carbohydrates and pesticides detoxication by humic substance in water and soil [Detoksikacija tjazhelyh metallov, poliaromaticeskikh uglevodov i pesticidov gumusovymi veshhestvami v vodah i pochvah]. *M-ly mezhdunarodnogo kongressa «Voda: jekologija i tehnologija»* (Proc. of the International Congress «Water: ecology and technology»). Moscow, 1994. Pp. 1136-1143. (in Russian).
3. Orlov, D.S. *Gumusovye kisloty* [Humic acids]. Moscow: Moscow State University publ., 1974. 332 p. (in Russian).
4. Tyurin, I.V. *Organicheskoe veshhestvo pochv i ego rol'* [Soil organic matter and its role]. Moscow, 1965. 319 p. (in Russian).
5. Dehorter, B. Extracellular enzyme activities during humic acid degradation by the white rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor* // *FEMS Microbiology Letters*. 1992. V. 94. № 3. Pp. 209-215
6. Esham, E.C., Ye W. Identiycation and characterization of humic substances-degrading bacterial isolates from an estuarine environment // *FEMS Microbiology Letters*. 2000. V. 34. Pp. 209-215.
7. Filip, Z., Tesarova, M. Microbial degradation and transformation of humic acids from permanent meadow and forest soils // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2004. V. 54. Pp. 225-231.
8. O'Brien. The impact of *Lactobacillus plantarum* TUA1490L supernatant on in vitro rumen methanogenesis and fermentation // *Anaerobe*. 2013. V. 22. Pp. 137-140.
9. Carney, D. Selective stimulation of small cell lung cancer clonal growth by bombesin and gastrin-releasing peptide // *Regulatory Peptides*. 1987. V. 19. P. 103.
10. Huang, Z., Liers, C. et al. Depolymerization and solubilization of chemically pre-treated powder river basin subbituminous coal by manganese peroxidase (MnP) from *Bjerkandera adusta* // *Fuel*. 2013. V. 112. Pp. 295-301.
11. Higuchi, T. Microbial degradation of lignin: role of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase // *Proceedings of the Japan Academy. Series B. Physical and Biological Sciences* 2004. V. 80. Pp. 204-214.

12. Salar-Behzadi. Impact of heat treatment and spray drying on cellular properties and culturability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 // *Food Research International*. 2013. V. 54. Pp. 93-101.
13. Burges, A., Latter, P. Decomposition of humic acid by fungi // *Nature*. 1960. V. 186. Pp. 404-405.
14. Hurst, H.M., Burges, A., Latter, P. Some aspects of the biochemistry of humic acid decomposition by fungi // *Phytochemistry*. 1962. V. 1. Pp. 227-231.
15. Cohen, M.S., Gabriele, P.D. Degradation of coal by the fungi *Polyporus versicolor* and *Poria monticola* // *Applied and Environmental Microbiology*. 1982. V. 44. Pp. 23-27.
16. Ralph, J.P., Catcheside DEA. Transformations of low rank coal by *Phanerochaete chrysosporium* and other wood-rot fungi // *Fuel Processing Technology*. 1997. V. 52. P. 79-93.
17. Catcheside, DEA; Ralph, J.P. Biological processing of coal // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1999. V. 52. Pp. 16-24.