

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии

Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Микробиологическая индикация почвогрунтов  
разновозрастных отвалов Бородинского бурогоугольного разреза  
и использование биоудобрений для повышения их  
продуктивности

06.04.01 Биология

06.04.01.00.09 Фундаментальная и прикладная биология

Научный руководитель	_____	<u>д.б.н., профессор</u>	<u>Гродницкая И.Д.</u>
	подпись, дата	ученая степень, должность	фамилия, инициалы
Научный консультант	_____	<u>к.б.н., с.н.с</u>	<u>Богородская А.В.</u>
	подпись, дата	ученая степень, должность	фамилия, инициалы
Студент	_____	<u>ББ18-09М</u>	<u>Салимгареева Ю.Р.</u>
	подпись, дата	номер группы	номер зачетной книжки
Рецензент	_____	<u>д.б.н., профессор</u>	<u>Безкоровайная И.Н.</u>
	подпись, дата	ученая степень, должность	фамилия, инициалы

Красноярск 2020 г.

## РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация на тему: «Микробиологическая индикация почвогрунтов разновозрастных отвалов Бородинского бурогольного разреза и использование биоудобрений для повышения их продуктивности» содержит 58 страниц, 89 использованных источников, 8 иллюстраций, 1 таблицу.

Ключевые слова: Бородинский бурогольный разрез, техногенно-поверхностные образования, эколого-трофические группы микроорганизмов, микробная биомасса, базальное дыхание, микробиологическая конверсия, органические удобрения, базидиомицеты.

Объект исследования: микробоценозы почвогрунтов Бородинского бурогольного разреза.

Цель работы: изучить динамику структурно-функциональных параметров микробных комплексов техногенно-поверхностных образований разновозрастных отвалов основных посттехногенных сукцессионных серий Бородинского бурогольного разреза и исследовать возможность микробиологической биоремедиации почвогрунтов отвалов.

Задачи:

1. Изучить динамику содержания микробной биомассы, интенсивности базального дыхания и микробного метаболического коэффициента в техногенно-поверхностных образованиях разновозрастных отвалов Бородинского бурогольного разреза основных посттехногенных сукцессионных серий в течение трех вегетативных сезонов (2016–2018 гг);

2. Рассмотреть динамику численности эколого-трофических групп микроорганизмов в почвогрунтах разновозрастных отвалов Бородинского бурогольного разреза основных посттехногенных сукцессионных серий за 2016–2018 гг;

3. Исследовать возможность повышения биологической активности и продуктивности почвогрунтов отвалов с использованием продуктов биоконверсии отходов лесной промышленности.

В работе была проведена оценка микробиологической активности в почвогрунтах на Бородинском угольном разрезе в течение трех вегетационных сезонов. В вегетационных экспериментах исследована возможность повышения биологической активности и продуктивности почвогрунтов отвалов с использованием продуктов биоконверсии отходов лесной промышленности.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. Обзор литературы	7
1.1 Эволюция экосистем техногенных ландшафтов	7
1.1.1 Инициальная стадия развития экосистемы	9
1.1.2 Стадия развития экосистемы с простой растительной группировкой	10
1.1.3 Стадия развития экосистемы со сложной растительной группировкой	11
1.1.4 Стадия развития экосистемы с замкнутой растительной группировкой	12
1.2. Методы определения микробной биомассы и относительные индексы функционирования микробного сообщества почвы	13
1.3. Характеристика почвогрунтов Бородинского бурогоугольного разреза	18
Глава 2. Объекты и методы исследования	23
Глава 3. Динамика активной микробной биомассы, базального дыхания и микробного метаболического коэффициента в почвогрунтах разновозрастных отвалов ведущих сукцессионных серий БУР	29
Глава 4. Динамика численности и структура эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ) в ТПО на разновозрастных отвалах Бородинского бурогоугольного разреза	34
Глава 5. Использование продуктов биоконверсии отходов деревообработки для повышения биологической активности и продуктивности литострат	38
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	47

## ВВЕДЕНИЕ

Карьерная разработка недр в районах горнодобывающей промышленности максимально трансформирует наземные экосистемы с изменением рельефа, гидрологического режима, уничтожением растительности, почвенного покрова и животного населения. На месте уничтоженного почвенного покрова создаются так называемые «техногенные» ландшафты, особенности образования и эволюции которых обусловлены спецификой производственной деятельности человека [1].

На восточной окраине лесостепной зоны Средней Сибири расположено крупнейшее угледобывающее предприятие в Красноярском крае – Бородинский Буроугольный разрез. Он входит в группу СУЭК, имеет площадь более 4 тыс. км<sup>2</sup> и производительность порядка 20 млн. тонн в год. Проект рекультивации нарушенных земель Бородинского буроугольного разреза (БУР) предусматривал лесохозяйственное, сельскохозяйственное и водохозяйственное направления [2]. На выровненном отвале без нанесения плодородного слоя почвы (ПСП) формируются благоприятные условия для создания лесных культур, а при гребневом микрорельефе – быстрое естественное заселение древесных пород. Нанесение ПСП на выровненную поверхность отвала применяется для сельскохозяйственной рекультивации, но зачастую, земли не вовлекаются в пользование, в дальнейшем проходят естественный цикл первичных сукцессий, начиная со стадии сорной рудеральной растительности [1].

На отвалах различной давности и технологии рекультивации выделяют несколько ведущих вариантов техногенных сукцессий: лесная – на выровненных отвалах без нанесения ПСП, эрозионная – на нерекультивированных и склонах отвалов, луговая – на спланированных отвалах с нанесением ПСП [1].

Активизация освоения субстрата микроорганизмами является основным механизмом ускорения почвенно-экологических функций экосистем. Образование органо-аккумулятивного горизонта служит показателем эффективности восстановления экосистемы [3, 4].

Важнейшую роль в процессе регенерации биогеоценозов техногенного ландшафта играет микробная колонизация, которая непосредственно участвует в процессах минерализации и гумификации растительных остатков, поэтому важно изучать сукцессии микробного компонента на отвалах разного возраста с разными способами рекультивации [3].

Цель работы заключалась в изучении динамики структурно-функциональных параметров микробных комплексов техногенно-поверхностных образований (ТПО) разновозрастных отвалов основных посттехногенных сукцессионных серий БУР и исследование возможности микробиологической биоремедиации почвогрунтов отвалов.

Задачи:

1. Изучить динамику содержания микробной биомассы ( $C_{\text{мик}}$ ), интенсивности базального дыхания (БД) и микробного метаболического коэффициента ( $q\text{CO}_2$ ) в ТПО разновозрастных отвалов БУР основных посттехногенных сукцессионных серий в течение трех вегетативных сезонов (2016–2018 гг);
2. Рассмотреть динамику численности эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ) в почвогрунтах разновозрастных отвалов БУР основных посттехногенных сукцессионных серий за 2016–2018 гг;
3. Исследовать возможность повышения биологической активности и продуктивности почвогрунтов отвалов с использованием продуктов биоконверсии отходов лесной промышленности.

## **Глава 1. Обзор литературы**

### **1.1 Эволюция экосистем техногенных ландшафтов**

Техногенные ландшафты при восстановлении проходят две фазы – фазу техногенного формирования и посттехногенную фазу развития. В период техногенной фазы закладывается каркас ландшафта для посттехногенной фазы: рельеф и его основные характеристики, породы с их вещественным составом и свойствами. В дальнейшем эта каркасная основа преобразуется под действием естественных ландшафтообразующих факторов. Техногенный ландшафт постепенно трансформируется в природный. Для каждого техногенного ландшафта длительность периода, необходимого для такой трансформации, своя. Она определяется спецификой свойств и режимов каркасной основы, которые закладываются на техногенной фазе, а так же особенностями биоклиматической обстановки данной местности.

Увеличение скорости процессов почвообразования напрямую зависит от мероприятий, комплексно направленных на восстановление техногенных ландшафтов. Зачастую объемы нарушенных земель значительно опережают темпы рекультивационных работ. Это связано с тем, что технологии, применяемые при рекультивации не имеют достаточной экологической эффективности и наукоемкости, что в свою очередь не дает в полной мере снизить негативное влияние техногенных ландшафтов на прилегающие территории. Несомненно, для того, что бы увеличить эффективность рекультивационных работ, необходимы новые методы в их организации, особенно при проектировании, и новый подход в научном обеспечении [5].

Биоценозы и фитоценозы техногенных ландшафтов проходят в своем развитии несколько стадий, которые называют стадиями сукцессии, а формирующиеся почвенные профили – фазы почвообразования. Сукцессии биоценозов и фазы почвообразования включают в себя инициальные, динамические и метастабильные этапы развития. Всего в техногенных ландшафтах выделяются четыре основных этапа развития: один инициальный, два динамических и один метастабильный.

Наиболее подходящей является классификация, предложенная Ф.Г. Вороновым [6]. Для самовосстанавливающихся экосистем он выделяет четыре стадии первичной сукцессии. Им соответствуют растительные группировки: пионерная (инициальная), простая, сложные растительные группировки и замкнутый фитоценоз. Сингенетически связанные растительные группировки и микробные сообщества И. Л. Клевенская назвала микробно-растительными ассоциациями [7].

### **1.1.1 Инициальная стадия развития экосистемы**

Высокая общая численность микроорганизмов, с преобладанием г-стратегов характерна для инициальной стадии развития экосистемы [6]. В благоприятные периоды года активность таких микробных сообществ возрастает и формируется биологический круговорот, что обеспечивает стартовое развитие экосистемы. Практически одновременно с развитием инициальных сообществ микроорганизмов происходит появление высших пионерных растений. Инициальные растительные группировки представлены единичными растениями, которые хаотично рассеяны в пределах техногенного контура. На этой стадии в составе травостоя чаще всего преобладают однолетние рудеральные виды сложноцветных, маревых и крестоцветных. Общее проективное покрытие не более 20–25%.

Таксономический состав микробиоты инициальной стадии очень беден. В нем нет целлюлозоразрушающих микроорганизмов. Для структуры



микробоценозов в данную стадию формирования экосистемы характерно высокое относительное содержание грибов и актиномицетов, со временем оно снижается.

Благодаря мицелиальному строению сообщества грибов захватывают и подвергают биохимической трансформации значительные объемы мелкозема минерального субстрата, что создает возможность для использования многих соединений другими более требовательными группами микроорганизмов [8].

Для микробных ассоциаций инициальной фазы характерен четко выраженный олиготрофный тип питания, связанный с низким уровнем азота и незначительной концентрацией органического вещества [8]. Среди олиготрофных групп микроорганизмов, являющихся доминантными на ранних стадиях сукцессии выделяется группа олигонитрофилов, активно развивающихся в обедненных субстратах [9]. В функциональном отношении они весьма специфичны, еще почти полностью отсутствуют возможности к разложению различных органических соединений (клетчатки, белков и т.д.). Этим они отличны от микробоценозов развитых систем [8].

Следует отметить, что в это время еще не существует четко выраженного микробиологического профиля и распределение микроорганизмов в минеральном субстрате имеет очаговый характер.

Таким образом, для биоценозов инициальной стадии развития экосистемы характерно стремление в максимально полной степени использовать эдафические условия, которые определяются техногенными последствиями. Поступление в почву органического вещества, которое является главным преобразователем исходной породы, ограничено ввиду малой емкости биологического круговорота и слабой интенсивности фотосинтеза.

### **1.1.2 Стадия развития экосистемы с простой растительной группировкой**

На стадии развития экосистемы с простой растительной группировкой развитие сообществ микроорганизмов регулируется адаптационными механизмами. r-стратеги, преобладающие на рассматриваемой стадии развития, обеспечивает микробоценоз способностью выживать в необычных почвенно-экологических условиях, и создает предпосылки для постепенной интенсификации биологического круговорота. Сообщество микроорганизмов данной стадии обладает важной особенностью – сохранением небольшого набора видов, среди которых преобладают актиномицеты и грибы и отсутствуют целлюлозоразрушающие организмы.

Преобладающей группой на данном этапе развития являются олиготрофы, что обусловлено низким уровнем азота в породе. Микробное сообщество рассматриваемой стадии развития экосистемы обладает важнейшей средообразующей функцией: процесс синтеза органического вещества значительно преобладает над его минерализацией, а та же происходит накопление азотсодержащих соединений. Микробиологический профиль, в отличие инициальной стадии развития, также не развит, но очаги не рассеяны по толще породы, а более или менее компактно сосредоточены в корнеобитаемом горизонте, главным образом в ризосфере и местах скопления отмерших остатков [6]. Следовательно, на этой стадии закладываются основы дифференциации почвенного профиля на генетические горизонты. В составе группировок преобладают глубокостержнекорневищные виды, корневищные, корнеотпрысковые [10, 11]. Процессы минерализации и гумификации не развиты, органическое вещество скапливается на поверхности почвы и образуется органо-аккумулятивный генетический горизонт.

### **1.1.3 Стадия развития экосистемы со сложной растительной группировкой**

Появление в составе микробоценозов к-стратегов способствует развитию конкурентных взаимоотношений внутри групп микроорганизмов со сходными физиологическими возможностями. Происходит усложнение микробного сообщества многочисленными микроорганизмами-дублерами, что обеспечивает его устойчивость в изменяющихся условиях внешней среды. Микробиологический профиль почв на описываемой стадии развития экосистемы дифференцируется на верхние горизонты, где сосредоточено органическое вещество в виде подстилки и дернины, и нижние, в которых свежее органическое вещество отсутствует или его очень мало (почвообразующая порода). В этот период возрастает роль рыхлокустовых злаков и травянистого покрова в целом. В результате усложнений в фитоценозе появляются эдификаторы и субэдификаторы. Проективное покрытие 80%. На рассматриваемой стадии развития экосистемы происходит смыкание подземного растительного яруса с концентрированием в нем микробного населения, расширение его эколого-физиологических функций, особенно в отношении преобразования органического вещества, что приводит к формированию нового в ходе развития эмбриоземов генетического горизонта – внутрипочвенного дернового горизонта.

Таким образом, усложнение дифференцированности почвенного профиля за счет появления нового генетического горизонта в период формирования сложной растительной группировки является важнейшим результатом сингенетического развития фитоценозов, микробоценозов и почв.

#### **1.1.4 Стадия развития экосистемы с замкнутой растительной группировкой**

На четвертой стадии микроценоз эмбриоземов достигает уровня, характеристики которого сопоставимы с характеристиками ненарушенных зональных экосистем. К этому этапу эколого-физиологические функции микробного сообщества включают все основные функции зональных сообществ, в том числе и способность к преобразованию органических остатков в гумусовые вещества, с накоплением их в почвенном профиле. Микробиологический профиль становится целостным, дифференцированным по генетическим горизонтам. На этой стадии микроценозы сохраняют черты молодости, что свидетельствует о продолжении эволюционных процессов. Замкнутый фитоценоз можно характеризовать как разнотравно-злаково-бобовое сообщество. Во время формирования замкнутого сообщества, в соответствии с законами сингенетичного развития, формируется наиболее зрелый тип эмбриоземов – гумусово-аккумулятивный. Для этого типа эмбриоземов свойственно наиболее сложное, по сравнению со всеми предшествующими эмбриоземами, строение почвенного профиля. К горизонтам (подстилке и дерновому горизонту), которые были сформированы ранее добавляется гумусово-аккумулятивный слой, что знаменует начало новой, метастабильной фазы почвообразования. На этом этапе под воздействием биологических процессов и трансформируемого органического вещества преобразуется и минеральная часть почвенного профиля.

Таким образом, основным свойством молодых техногенных экосистем, которое отличает их от экосистем ненарушенных ландшафтов окружающих территорий, является увеличение в ходе сукцессии микробной биомассы почвы. При этом более быстрая оборачиваемость, высокая метаболическая активность, а также более значительный вклад микробиальной массы в органическое вещество молодых почвенных образований свидетельствуют

об исключительно важной роли почвенных микроорганизмов в структурно-функциональных изменениях экосистем на начальных стадиях сукцессии [9].

## **1.2. Методы определения микробной биомассы и относительные индексы функционирования микробного сообщества почвы**

Почвенные микроорганизмы являются важнейшим компонентом, обладающим очень большим количеством разнообразных функций, которые имеют непосредственное отношение к процессам почвообразования. Почвенные микроорганизмы контролируют потоки углерода и азота, осуществляя важнейшие процессы круговорота: минерализацию органического вещества, денитрификацию, азотфиксацию, нитрификацию, иммобилизацию элементов в микробной биомассе [12–15]. Кроме того, микробная биомасса непосредственно участвует в формировании почвенной структуры, является активным агентом разложения органического вещества и ксенобиотиков в почве и трансформации важных элементов (C, N, P, S), иммобилизации тяжелых металлов [16], а также участвует в регуляции газового состава атмосферы [17–20]. Микробное сообщество почвы незамедлительно реагирует на разнообразные воздействия, как природные, так и антропогенные. В качестве микробиологических индикаторов изменения почвы используют микробную биомассу, численность микроскопических грибов и бактерий, их ферментативную активность. Более востребованными показателями экологического состояния почвы, ее функционирования считаются микробная биомасса, базальное дыхание, микробный метаболический коэффициент (удельное дыхание микробной биомассы), доля углерода микробной биомассы в органическом углероде почвы и отношение грибы / бактерии [21]. Эти методы являются наиболее востребованными, воспроизводимыми и экспрессными показателями функционирования почвы [21].

Следует отметить, что рассматриваемые микробиологические свойства во многих странах, в том числе и европейских [22], служат информативными и полезными индикаторами состояния почвы так как они: 1) доступны и понятны для землепользователей и политиков; 2) чувствительны к изменению землепользования и многим другим нарушениям, в том числе и антропогенным; 3) полезны для объяснения экосистемных процессов; 4) играют значительную роль в биогеоценотических функциях почвы; 5) малое время и трудозатратное определение; 6) научная обоснованность, подтверждается большим количеством научных работ, опубликованных в рецензируемых изданиях 7) широкий ряд почв [23, 24].

В составе микобоценоза можно выделить потенциально активную, активную, и пассивную и мертвую биомассу [25]. Активная микробная биомасса почвы участвует в минерализации легкодоступных субстратов и быстро реагирует на внесение дополнительных, клетки быстро растут и размножаются [25]. Показано, что в почве *in situ* (без внесения дополнительных питательных веществ) содержание активной биомассы составляет лишь 0,1–2% (редко около 5%) общей [26]. Потенциально активная микробная биомасса занимает промежуточное положение между активной и пассивной, и составляет около 10–40% общей. Ее характерной особенностью является способность быстро переходить из неактивного состояния в активное (за несколько часов) [27]. Пониженной физиологической активностью, когда клетки находятся в покое и формируют споры, цисты характеризуется пассивная микробная биомасса почвы [28]. Мертвая микробная биомасса (некротомасса), является частью почвенного органического вещества, которая, минерализуется активной и пассивной микробной биомассой до  $\text{CO}_2$  [29–31].

Существуют различные методы определения микробной биомассы. Их можно условно разделить на три вида: расчетные, прямые химические, косвенные химические [32].

Прямой микроскопический учет бактерий и мицелия грибов с использованием камеры Горяева, метод учета колоний после посева разведений суспензий почв на агар и др. являются примерами расчетных методов.

Косвенные химические методы построены на условном пересчете показателей биологической активности на биомассу. К данной группе можно отнести метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД).

Прямые химические методы, к которым относятся методы фумигации-экстракции, выделения ДНК, липидных комплексов, грибного хитина и другие, основаны на разрушении микробных клеток с последующей экстракции всей биомассы или какого-либо индикационного компонента. [32].

Потребление глюкозы микроорганизмами почвы *in situ* за несколько часов, в течение которых не происходит роста и размножения клеток, является основой определения содержания микробного углерода (биомассы) в почве. Метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД) представляет собой измерение начальной максимальной скорости дыхания микроорганизмов, которое индуцировано путем внесением в почву легкодоступного универсально субстрата. Таким субстратом в данном методе выступает глюкоза, которая является основным мономером целлюлозы, доля которой в растительном опаде составляет 70–80%.

Следует отметить, что  $C_{\text{мик}}$  выступает чувствительным индикатором изменения окружающей среды [33–35] и важным и информативным показателем для многих экологических мониторинговых программ и исследований [36, 37]. При исследовании критических пределов сбалансированного функционирования почв, а так же их мониторинга для различных масштабов и регионов, определение  $C_{\text{мик}}$  может выступать важным “инструментом” [38–41]. В международных мониторинговых программах часто используются микробная биомасса, ее активность и

разнообразие микробного сообщества [42, 43], а также в качестве индикаторов устойчивости почв к внешним воздействиям. В ряде зарубежных стран углерод микробной биомассы имеет статус стандартного индекса для определения качества почвы [44]. Метод СИД обладает рядом преимуществ, так как он достаточно прост в исполнении, оперативен и дает хорошо воспроизводимые результаты, с относительной ошибкой не более 5% [44].

Ключевым информативным показателем активности микробного сообщества является базальное дыхание почвы (БД) [45]. БД представляет собой скорость продуцирования  $\text{CO}_2$  почвой в определенных гидротермических условиях (температура, влажность), чаще всего при  $22^\circ\text{C}$  в течение 24 ч. [46, 47].

Еще одним показателем почвенного состояния является микробный метаболический коэффициент ( $q\text{CO}_2$ ).  $q\text{CO}_2$  представляет собой отношение базального дыхания почвы и содержания углерода микробной биомассы. Величина  $q\text{CO}_2$  является одним из информативных показателей экофизиологического состояния микробного сообщества почвы [48]. Установлено, что в нарушенных и загрязненных почвах чаще индицируется высокое  $q\text{CO}_2$ , что может указывать на большие затраты микроорганизмов для поддержания жизнедеятельности и, как следствие микробного стресса. Высокое  $q\text{CO}_2$  связано также с большей скоростью отмирания микробной биомассы, что может указывать на потерю  $\text{C}$  почвой [49]. В почве устойчивых или климаксных экосистем (например, старовозрастный лес), значение  $q\text{CO}_2$  обычно низкое и составляет  $\leq 2-4$   $\text{мкг C-CO}_2/\text{мг C}_{\text{мик}} \times \text{ч}$  [50]. Более того,  $q\text{CO}_2$  может в определенной степени характеризовать экологическую стратегию почвенных микроорганизмов, так его высокое значение отмечено для r-стратегов [51]. Показано также, что этот показатель может служить индикатором изменения функционирования микробного сообщества, в том числе и при любых внешних воздействиях [51, 52, 53].



Показатель  $qCO_2$  почвы в сочетании с другими весьма целесообразен, поскольку он в определенной степени может служить полезным индикатором ее «качества» и «здоровья». Так, показатель  $qCO_2$  наряду с ферментативной и дыхательной активностью входит в перечень показателей мониторинговых программ по оценке экологического состояния почв в некоторых районах Германии [50].

Известно, что углерод микробной биомассы является частью органического углерода почвы, он составляет 1–5% [33]. Отношение  $C_{\text{мик}} / C_{\text{орг}}$  считают индикатором доступности органического углерода почвы [33]. При этом высокая доля  $C_{\text{мик}}$  указывает на закрепление органического вещества в микробной биомассе, что в свою очередь свидетельствует о благоприятных условиях функционирования микробного сообщества и может характеризовать определенное «качество» органического вещества почвы [43].

В целом, такие относительные физиологические показатели микробного сообщества почвы, как  $qCO_2$  и  $C_{\text{мик}} / C_{\text{орг}}$ , могут количественно характеризовать процессы катаболизма и анаболизма соответственно. Показано, что эффективность использования органического субстрата микроорганизмами снижается в загрязненных почвах (стрессовые условия для микроорганизмов). Это, в свою очередь, означает что большая часть субстрата «катаболизируется» до  $CO_2$ , а меньшая – вовлекается в микробную биомассу [54].

Таким образом, статус микробного сообщества почвы несомненно может быть охарактеризован полезными для исследователей показателями:  $qCO_2$ ,  $C_{\text{мик}} / C_{\text{орг}}$  и  $qCO_2 / C_{\text{орг}}$ .

### **1.3. Характеристика почвогрунтов Бородинского буроугольного разреза**

Отвалы, которые формируются при разработке каменного угля состоят, как правило, из смеси вскрышных пород, они неоднородны по гранулометрическому составу и химическим свойствам [55–56].

По систематике ТПО [57], нерекультивированные отвалы, называются литостратами. Морфология литострат зависит от их биологического возраста, состава слагающих его пород и уклона поверхности. На инициальной стадии профиль литострат, сформированный на склонах в основном не дифференцирован на горизонты. Исключение составляют участки, покрытые злаковым разнотравьем, где корневища растений, образуя дернину, препятствуют развитию эрозионных процессов, а под слоем дернины постепенно формируется гумусовый горизонт. Восстановление растительного и почвенного покровов, а также естественное лесовосстановление на выровненных отвалах происходит быстрее, поскольку образующееся органическое вещество не смывается с поверхности [55].

Выровненность литострат напрямую влияет на интенсивность процессов биологической трансформации и аккумуляции органики, а так же определяет уровень их плодородия. Аналогичные выводы были получены в результате исследований, которые были проведены на отвалах угольных разрезов в Подмосковье [58], Красноярском крае (Назаровский и Березовский разрезы в западной части Канско-Ачинского бассейна) [59], а также в Амурской области [60].

В структуре почвенного покрова земель, изымаемых под разработку угольных разрезов Канско-Ачинского бассейна преобладают плодородные агропочвы с мощным гумусово-аккумулятивным горизонтом (черноземы, серые лесные и т.д.) [59]. Технология вскрыши на таких участках предусматривает снятие и складирование в бурты плодородного слоя почв (ПСП). Складированный субстрат ПСП в дальнейшем используется при

создании на полях рекультивации искусственных почвоподобных тел или техногенных поверхностных образований. Для этого отвалы пород предварительно выравнивают, а на спланированную поверхность наносят слой ПСП. Сформированный таким образом ТПО относят к группе квазиземов, подгруппе реплантоземов [57].

В профиле реплантоземов хорошо различимы два слоя: вскрышные породы и насыпанный плодородный слой почвы, мощность которого на изучаемых участках значительно варьирует [59].

Большая часть рекультивированных территорий с созданными реплантоземами длительное время остается не востребованной, и поэтому на них развиваются естественные почвообразовательные процессы, направленные на оптимизацию функционирования ТПО и установление динамического равновесия как внутри профиля, так и с окружающей природной средой. Таким образом, создаются и развиваются особенные природнотехногенные образования, изначально обладающие высоким плодородием [59].

#### **1.4 Использование биоудобрений – продуктов биоконверсии отходов деревообработки для ремедиации деградированных почв**

В настоящее время в лесной зоне России остро стоит вопрос накопления отходов лесопромышленного комплекса. В составе отходов лесной промышленности Красноярского края большую долю составляют опилки хвойных пород, объем которых может достигать 20% от объема всего обрабатываемого сырья. Основная масса опилок не утилизируется, а превращается в отход, который представляет пожарную и экологическую опасность. В настоящее время известен способ борьбы с этой проблемой с помощью переработки древесных отходов путем биоконверсии методом компостирования. При компостировании древесных отходов происходит очищение экосистемы, а так же производится полезный продукт – органическое удобрение. Для ускорения процесса компостирования применяют микробные закваски, включающие микроорганизмы-деструкторы целлюлозы и лигнина, основных биополимеров древесины. Компостирование древесных отходов является перспективным методом с экологической точки зрения, а так же достаточно дешевым способом переработки отходов лесопромышленного комплекса [62].

Развитие идей микробиологической биотрансформации древесных отходов с последующим использованием их в качестве биоудобрений прослеживается в работах отечественных ученых [63–68]. Предлагаемые методы основаны на биодеградации древесных отходов как аборигенными культурами почвенных микроорганизмов, так и выделенными из естественных мест обитания штаммов грибов с высокой дереворазрушающей активностью [67, 69, 70]. Но известно, что многие микроорганизмы не обладают необходимыми биологическими возможностями для утилизации лигнинцеллюлозных субстратов [71]. Базидиальные грибы-ксилотрофы являются наиболее мощными деструкторами древесины в природе [64].

Базидиомицеты – высшие грибы с многоклеточным мицелием, насчитывающие около 30 тыс. видов, как микроскопических грибов, так и грибов с крупными плодовыми телами. Хотя базидиомицеты встречаются в самых разнообразных экосистемах, включая луга, степи, пустыни, наиболее широко они представлены в лесных экосистемах. Основная функция базидиомицетов в природе – разложение лигнина и целлюлозы, и именно эта способность привлекает пристальное внимание исследователей как с точки зрения понимания механизма данного процесса, так и с целью разработки биотехнологий утилизации древесных и растительных отходов [65]. Одним из ведущих механизмов биодеградации лигниноцеллюлозных субстратов является действие сложного мультиэнзимного комплекса преимущественно с участием гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов, что открывает широкие возможности практического использования ксилотрофных макромицетов в качестве деструкторов сложных природных биополимеров или синтетических токсикантов и обуславливает поиск новых активных продуцентов [70].

Общепринятой практикой утилизации древесных отходов с использованием грибов в настоящее время является выращивание на них съедобных базидиальных грибов. Наибольшее распространение получил *Pleurotus ostreatus* [65]. Известно, что вид *P. ostreatus* обладает лигнинпероксидазой и лакказной активностью, продуцируя лакказу, арилалкогольоксидазу и другие ароматические оксидазы. Это позволяет считать *P. ostreatus* перспективным агентом для получения органических удобрений способом биоконверсии [72].

При твердофазном культивировании ксилотрофных грибов на опилках и растительных субстратах возможно получить микопродукт (МП), который самостоятельно или в качестве добавки к другим субстратам, может использоваться как биоудобрение при лесовыращивании и в сельском

хозяйстве [73]. Биоудобрение способствует обогащению почвы не только элементами питания, но и микрофлорой, является стабилизатором биологической активности почвы, улучшает ее агрофизические и агрохимические свойства [66]. В МП происходит частичная деградация лигноцеллюлозного комплекса, снижается содержание легко- и трудногидролизуемых полисахаридов, увеличивается количество экстрактивных веществ, снижается уровень лигнина [65, 69, 73, 74], разрушаемая древесина обогащается грибным мицелием, иммобилизованным естественным образом на субстрате [75–77]. Обогащение почвы опилочно-почвенным субстратом с микопродуктом также сказывается на приросте и выживаемости саженцев. В результате применения опилочно-почвенных субстратов увеличился их рост и жизненный потенциал [73]. Оба компонента системы по отдельности рассматриваются как перспективные сорбенты тяжелых металлов, нефти, органических загрязнителей-ксенобиотиков [65]. Сочетание биологической деструкции и обогащения грибной биомассой позволяет ожидать увеличения сорбирующей активности продуктов биоконверсии и (или) проявления у них качественно новых свойств.

В процессе биоконверсии химический состав субстрата претерпевает значительные изменения. В сравнение с исходными опилками после их биоконверсии снижается содержание легко- и трудногидролизуемых полисахаридов. Количество лигнина снижается почти на 10 %. Содержание общего белка в микопродукте составляет около 7%, против полного его отсутствия в исходных опилках. При этом выход готового продукта составляет 70% от исходного сырья [72].

Таким образом, анализ литературных данных позволяет утверждать, что биоконверсия опилок ксилотрофными базидиомицетами является не только перспективным способом утилизации древесных отходов, но и может успешно использоваться для увеличения продуктивности нарушенных почв.

## Глава 2. Объекты и методы исследования

Бородинский угольный разрез располагается на восточной окраине лесостепной зоны Средней Сибири в пределах Канской котловины. Площадь месторождения составляет более 4 тыс. км<sup>2</sup> [78]. Рельеф представлен волнистой равниной. Климат исследуемой территории – умеренный. Среднее годовое количество осадков 375 – 400 мм, среднегодовая температура составляет 0.6°С [78].

По почвенно-географическому районированию изучаемая территория относится к Красноярско-Канской подпровинции выщелоченных и обыкновенных черноземов, лугово-черноземных и серых лесных длительносезонномерзлотных почв [79].

На БУР в связи с ведущими направлениями горной рекультивации, особенностями формирования рельефа и почвогрунтов, динамическими процессами, происходящими на отвалах, выделяют 3 посттехногенных сукцессионных серии: эрозионная – на нерекультивированных и склонах отвалов; лесная – на выровненных отвалах без нанесения ПСП; луговая – на спланированных отвалах с нанесением ПСП [1].

Участки для пробных площадей (ПП) (табл.1) подбирали таким образом, чтобы охарактеризовать растительные сообщества, преобладающие в структуре рекультивационных полей, с учетом гетерогенности последних по направлению рекультивации (сельско- или лесохозяйственная). Для каждой серии подобраны контрольные участки: березняк разнотравный и залежный луг с зональными почвами Канской лесостепи: серыми лесными и агрочерноземами соответственно (табл.1).

Техногенные поверхностные образования, созданные в результате разработки угля, не могут быть предметом генетической почвенной классификации, поскольку в них еще не сформировались генетические горизонты. При анализе ТПО Бородинского разреза использовалась общепринятая систематика техногенных поверхностных образований. В

соответствии с классификацией техногенные поверхностные образования отвалов с нанесением плодородного слоя почвы относят к группе квазизёмов, подгруппе реплантозёмов, без нанесения ПСП – к группе натурфабрикатов, подгруппе литострат [57].

Образцы для исследования отбирались из почвенных прикопок стандартным методом в конце вегетативного периода за 2016–2018 гг. Образцы почвы отбирались по слоям (0–5 см, 5–10 см). Для анализов использовались свежие образцы, хранившиеся при температуре +5° С не более 2–3 недель [61].

Содержание микробной биомассы ( $C_{\text{мик}}$ ) в образцах производили методом субстрат-индуцированного дыхания [61]. Метод СИД представляет собой измерение первоначального максимального выделения  $\text{CO}_2$  из почвы, обогащенной глюкозой в интервале не превышающем лаг-фазу роста микробной популяции. В стеклянные флаконы (250 мл) добавляли образцы и глюкозо-минеральную смесь (ГМС, мг/мл: глюкоза – 200;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 20;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 20), герметично закрывали резиновыми пробками и инкубировали при 22°С в течение 3–4 часов, что соответствует лаг-периоду.  $C_{\text{мик}}$  определяли путем пересчета скорости СИД по формуле (1.1):

$$C_{\text{мик}} (\text{мкг/г почвы}) = (\text{мкл } \text{CO}_2 / (\text{г почвы} \times \text{ч})) \times 40,04 + 0,37 \quad (1.1)$$

Субстрат-индуцированное дыхание определяли как разность концентраций  $\text{CO}_2$  в начале инкубации образцов и в конце с помощью газового хроматографа Agilent Technologies 6890N, снабженного пламенно-ионизационным детектором и метанатором (Hewlett-Packard, США). Во время анализа использовали колонку Supelco 10182004 из нержавеющей стали с внутренним диаметром 3.175 мм и длиной 1828.8 мм. Адсорбент – 80/100 Porapak Q. Рабочие параметры хроматографа Agilent 6890N: температура термостата колонки – 80°С, поток газа-носителя (гелия) – 20 мл мин<sup>-1</sup>.



Таблица 1 – Основные характеристики пробных площадей

№ участка	Год формирования отвала	Местоположение по элементам рельефа и экспозиция склона	Тип современной растительности	Тип почвы/ ТПО*	Технология рекультивации**
(11)	Контроль	Нижняя часть северного склона, 5°	Березняк злаково-травяной	Серые типичные	А
(13)	Контроль	Южный склон, средняя часть, 10°	Луг разнотравно-злаковый	Агрочернозем глинисто-иллювиальный типичный	А
(1)	1979	Равнинный участок	Березово-осиновый мелкотравный лес	Литостраты	Б
(19)	2003	Равнинный участок	Культуры сосны с большими междурядьями, заросшими разнотравьем и облепихой	Литостраты	Б
(16)	2006	Равнинный участок	Культуры сосны с группировками сорных видов	Литостраты	Б
(3)	1983	Средняя часть южного склона отвала, 10°	Сорная растительность с разреженным подростом сосны	Литостраты	Б
(2)	1979	Равнинный участок	Луг бобово-злаковый разнотравный	Реплантоземы	В
(18)	2003	Равнинный участок	Злаковый пырейно-кострецовый луг	Реплантоземы	В
(9)	2006	Равнинный участок	Луг разнотравно-злаковый с рудеральными видами	Реплантоземы	В

\* - по (Классификация..., 2004)

\*\* - технология рекультивации: А – контроль; Б – спланированный отвал без нанесения плодородного слоя почвы (ПСП); В – спланированный отвал с нанесением ПСП

Режим работы пламенно-ионизационного детектора: температура детектора – 250°C, поток водорода – 20 мл мин<sup>-1</sup>, поток воздуха – 400 мл мин<sup>-1</sup>.

Базальное (фоновое) дыхание образцов измеряли после их инкубации в течении 24 при 25°C по скорости выделения CO<sub>2</sub> почвой [51]. Определение CO<sub>2</sub> проводили на хроматографе, как описано для определения СИД, только вместо раствора ГМС вносили воду. Интенсивность БД выражали в мкг С–CO<sub>2</sub>/(г×ч).

Микробный метаболический коэффициент (qCO<sub>2</sub>) рассчитывали как отношение скорости базального дыхания к микробной биомассе:

$$\text{БД}/C_{\text{мик}} = q\text{CO}_2 \text{ (мкг С–CO}_2\text{/мг } C_{\text{мик}} \times \text{ч)} \text{ [83].}$$

Расчет содержания C<sub>мик</sub> и БД производили в пересчете на абсолютно сухую почву. Для этого взвешивали пустой бюкс, бюкс с влажной почвой 3–5 г и бюкс с сухой почвой после 8–10 часов высушивания в сушильном шкафу при 105°C. Результат измерений массовой доли углерода микробной биомассы пересчитывали на абсолютно сухую почву по формуле (1.2):

$$C'_{\text{мик}} = C_{\text{мик}} * K, \tag{1.2}$$

$$\text{где } K = 100 / (100 - W) \tag{1.3}$$

где W – массовая доля влаги в процентах, измеренная по ГОСТ 28268-89.

$$W = (m_1 - m_0 / m_0 - m) * 100 \tag{1.4}$$

где m<sub>1</sub> – масса влажной почвы со стаканчиком и крышкой, г;  
m<sub>0</sub> – масса высушенной почвы со стаканчиком и крышкой, г;  
m – масса пустого стаканчика с крышкой, г.

Эколого-трофические группы (ЭКТГМ) исследовали методом подсчета количества колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 грамме абсолютно сухой почвы на различных диагностических средах: на крахмало-аммиачном агаре (КАА) производили подсчет прототрофов, на мяско-пептонном агаре (МПА) аммонификаторов, на среде Эшби – олигонитрофилов, на нитритной среде (НА) – гумусоразлагающих, на почвенном голодном агаре (ПА) – олиготрофов [61].

Биоудобрения на основе МП получали путем твердофазного культивирования мицелия ксилотрофных базидиальных грибов *Trametes versicolor* и РО-4.1 *Pleurotus ostreatus* на свежих увлажненных сосновых и березовых опилках соответственно для разных грибов в течение 2,5 месяцев при 25° С. Для приготовления субстрата с целью культивирования *T. versicolor* измельченные сосновые опилки на 12 ч замачивали в разбавленном в 10 раз сусле, прогревали, отжимали, вносили измельченный чистотел (5% по объему) для усиления лигнолитической активности [73], раскладывали по 3-х литровым банкам и стерилизовали дробно дважды с интервалом в сутки в течение 40 минут каждый раз при температуре 120 °С и давлении 1 атм. Для культивирования *P. ostreatus* измельченные березовые опилки на сутки замачивали в водопроводной воде, отжимали, раскладывали по 3-х литровым банкам и стерилизовали как описано выше. Перед засевом гриба вносили 5% раствор аммонийной селитры (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>). Засев проводили предварительно выращенными 10-суточными культурами грибов на сусло-агаре в соотношении 2 % от объема. Культивировали в течение 2,5 месяца при 25°С [84]. Затем мицелиально-опилочную массу (микопродукт) измельчали и высушивали до воздушно-сухого состояния.

В эксперименте также использовались отработанные субстратные блоки (СБ) после культивирования Р 22 *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. Субстратные блоки состояли из отходов лесопереработки без тщательного

разделения по породам с добавлением некондиционного зерна (пшеница, овес) и хвои после извлечения масел [76].

В пластиковые контейнеры помещали измельченный и просеянный через 3 мм сито грунт (смесь вскрышных и вмещающих пород БУР) (вариант «контроль»), смешанный с 5% по весу с сосновыми и березовыми опилками (варианты «ОП сосна» и «ОП береза»), а также с внесением 5% по весу МП грибов *T. versicolor* (вариант «МП *T. versicolor*»), *P. ostreatus* (вариант «МП *P. ostreatus*») и СБ *P. eryngii* (вариант «СБ *P. eryngii*»).

Семена сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), предварительно обработанные фунгицидом (флудиоксонил), высевали в разные варианты грунта с добавками по 20 семян в шести повторностях, увлажняли до 60% и оставляли для прорастания при комнатной температуре (25° С). Учет грунтовой всхожести проводили на 26 сутки. Повторный учет для определения сохранности сеянцев проводили на 52 сутки от начала эксперимента. У оставшихся сеянцев сосны проводили морфометрические измерения по следующим параметрам: длины корневой системы, стволика и мутовки. Также определялась биомасса сеянцев, которую учитывали стандартными методами [19].

Во всех вариантах грунта с добавками биоудобрений после снятия эксперимента определяли содержание микробной биомассы ( $C_{\text{мик}}$ ), интенсивность базального дыхания (БД). Также изучали общую численность и структуру эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ) на диагностических средах.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 10. Достоверность полученных результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента при уровне значимости  $P = 0,05$ .

### **Глава 3. Динамика активной микробной биомассы, базального дыхания и микробного метаболического коэффициента в почвогрунтах разновозрастных отвалов ведущих сукцессионных серий БУР**

Важнейшими эколого-физиологическими показателями состояния микробоценоза, отражающие степень его активности и устойчивости являются респирометрические показатели: скорость базального дыхания и содержание микробной биомассы. Динамика данных показателей в реплантоземах и литостратах за исследуемый период изображена на рис.1.

## ВЫВОДЫ

1. Для 12-35-летних литострат характерны низкие значения содержания углерода микробной биомассы и интенсивности базального дыхания, сниженная численность эколого-трофических групп микроорганизмов и высокая олиготрофность. Сукцессии микробных комплексов литострат идут медленными темпами, только к 39-годам под естественным листовым насаждением в литострате сформировался 3 см гумусовый слой, где, численность ЭКТГМ и функциональная активность выше, чем в серой лесной почве контрольных березняков.

2. Нанесение плодородного слоя почвы на выровненную поверхность отвалов ускоряет сукцессию луговой растительности и развитие микробных комплексов. Среди разновозрастных реплантоземов в верхнем слое наблюдается высокая численность ЭКТГМ, не уступающая таковой в агрочерноземе контрольных луговых сообществ. Содержание  $C_{\text{мик}}$  и интенсивность БД в верхних слоях 12–15-летних отвалов сравнимы с контролем и превышают таковые в 39-летнем реплантоземе.

3. В вегетационных экспериментах внесение в почвогрунты микопродуктов, опилок и отработанных субстратных блоков повышало грунтовую всхожесть семян сосны обыкновенной на 10–50%, увеличивало сохранность сеянцев на 21–47%, улучшало все их морфометрические параметры (в 3,5–4,4 раз). Максимальное увеличение всхожести семян (на 47%) наблюдали в варианте «МП *T. versicolor*», где сохранность сеянцев превышала контроль в 2,5 раза.

4. Внесение биоудобрений увеличивало биогенность и функциональную активность микробоценоза грунтов, особенно в вариантах с микопродуктами и отработанными субстратными блоками. Наибольшие значения микробной биомассы (в 2–3,3 раза), скорости дыхания (в 4–8,5 раз),

численности ЭКТГМ (в 1,5–9 раз) по сравнению с контролем, отмечены в вариантах «МП *P. ostreatus*» и «СБ *P. Eryngii*».

5. Добавление продуктов биоконверсии отходов лесной промышленности в почвогрунты отвалов позволит повысить их биологическую активность и продуктивность, и может быть рекомендовано для улучшения плодородия литострат Бородинского бурогольного разреза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шишкин, А.С. Организация исследований техногенных территорий / А.С. Шишкин // Сибирский лесной журнал. – 2016. – № 2. – С. 102–119.
2. Рабочий проект рекультивации земель, нарушенных ОАО «Разрез Бородинский» в Рыбинском районе Красноярского края, Красноярск. 2005
3. Бурыкин, А.М. Темпы почвообразования в техногенных ландшафтах в связи с их рекультивацией / А.М. Бурыкин // Почвоведение. – 1985. – № 2. – С. 81–93.
4. Наплекова, Н.М. Микробные ценозы техногенных экосистем Сибири / Н.М. Наплекова, С.С. Трофимов, Е.Р. Кандрашин, Ф.А. Фаткулин, Л.П. Баранник // Техногенные экосистемы: организация и функционирование / Новосибирск : Наука, 1985. – С. 38–69.
5. Гаджиев И.М. Стратегия и перспективы решения проблем рекультивации нарушенных земель: монография / И. М. Гаджиев, В. М. Курачев, В. А. Андроханов. – Новосибирск: ЦЭРИС, 2001. – 31 с.
6. Воронов, А.Г. Геоботаника Учеб. пособие для биол. и геогр. специальностей ун-тов и пед. ин-тов 2-е изд. / А.Г. Воронов. – Москва : Высш. школа, 1973. – 384 с.
7. Клевенская, И.Л. Микробиологические исследования в Западной Сибири / И.Л. Клевенская. – Новосибирск : Акад. наук СССР. Сиб. отд-ние, Всесоюзн. микробиолог. о-во, 1989. – 166 с.
8. Клевенская, И.Л. Сукцессии и функционирование микробоценозов в молодых почвах техногенных экосистем Кузбасса / И.Л. Клевенская, С.С. Трофимов, С.А. Таранов, Е.Р. Кандрашин и др. // Микробоценозы почв при антропогенном воздействии. – Новосибирск : Наука, 1985. – С. 3–21.
9. Титлянова, А.А. Сукцессии и биологический круговорот / А.А. Титлянова, Н.А. Афанасьев, Н.Б. Наумова. – Новосибирск : Наука, 1993. – 157 с.



- 10.Родынюк, И.С. Клубеньковые образования травянистых растений Сибири / И.С. Родынюк, И.Л. Клебенская. – Новосибирск : Наука, 1977. – 176 с.
- 11.Гаджиев И.М. Экология и рекультивация техногенных ландшафтов / И. М. Гаджиев, В. М. Курачев, Ф. К. Рагим-заде и др. – Новосибирск : Наука, 1992. – 303 с.
- 12.Курачев, В.М. Сукцессии и биологический круговорот / В.М. Курачев. – Новосибирск : Наука. – 1993. – 157 с.
- 13.Макаров, М.И. Углерод и азот микробной биомассы в почвах южной тайги при определении разными методами / М.И Макаров, Т. И. Малышева, М.Н. Маслов, Е.Ю. Кузнецова, О. В. Меняйло // Почвоведение. – 2016. – № 6. – С. 733–744.
- 14.Dilly O. Variation of stabilised, microbial and biologically active carbon and nitrogen soil under contrasting land use and agricultural management practices / Dilly O., Blume H.P., Sehy U., Jiménez M., Munich J.C. // Chemosphere. – 2003. – P. 557–569.
- 15.Anderson, T.H. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach / Т.Н. Anderson, К.Н. Domsch // Soil Biol. Biochem. – 2010. – Issue 12. – P. 2039–2043.
- 16.Гавриленко, Е.Г. Оценка качества почв разных экосистем (на примере серпуховского и подольского районов Московской области) / Е.Г. Гавриленко, Н.Д. Ананьева, О.А Макаров // Почвоведение. – 2013. – № 12. – С. 1505–1515.
- 17.Звягинцев, Д.Г. Роль микроорганизмов в биогеоценологических функциях почв / Д.Г. Звягинцев, Т.Г. Добровольская, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова, Л.В. Лысак, О.Е. Марфенина // Почвоведение. – 1992. – № 6. – С. 63–77.

18. Conrad R. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub>, OCS, N<sub>2</sub>O and NO) / Conrad R. // *Microbiological Reviews*. – 1996. – P. 609–640.
19. Заварзин, Г.А. Почва как главный источник углекислоты и резервуар органического углерода на территории России / Г.А. Заварзин, В.Н. Кудеяров // *Москва: Вестник Российской академии наук*. – 2006. – Т. 76. – № 1. – С. 14–24.
20. Griffiths E. Micro-organisms and soil structure / E. Griffiths // *Biol Rev*. – 1965. – P. 129–142.
21. Murugan R. Changes in soil microbial biomass and residual indices as ecological indicators of land use change in temperate permanent grassland / R. Murugan, R. Loges, F. Taube, A. Sradnick, R.G. Joergensen // *Soil microbiology* – 2014. – P. 907–918.
22. Иващенко, К.В. Обилие и дыхательная активность микробного сообщества почвы при антропогенном преобразовании наземных экосистем : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / Иващенко Кристина Викторовна. – Пущино, 2017. – 26 с.
23. Brookes P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals / P.C. Brookes // *Biology and Fertility of Soil*. – 1995. – P. 269–279.
24. Doran, J.W. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality / J.W. Doran, M.R. Zeiss // *Applied Soil Ecology*. – 2000. – P. 3–11.
25. Blagodatskaya, E. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches / E. Blagodatskaya, Y. Kuzyakov // *Soil Biol Biochem*. – 2013. – P. 192–211.
26. Prosser, J.I. The role of ecological theory in microbial ecology / J.I. Prosser, B.J.M. Bohannan, T.P. Curtis, R.J. Ellis, M.K. Firestone, R.P. Freckleton, Green etc. // *Nat. Rev. Microbiol*. – 2007. – P. 384–392.

27.Placella, S.A.Rainfall-induced carbon dioxide pulses result from sequential resuscitation of phylogenetically clustered microbial groups / S.A. Placella, E.L. Brodie, M.K. Firestone // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. –2012. – P. 10931–10936.

28.Roszak, D.B. Survival strategies of bacteria in the natural environment / D.B. Roszak, R.R. Colwell // Microbiol. Rev. – 1987. – P. 365–379.

29.Villarino, A., Exploring the frontier between life and death in Escherichiacoli: evaluation of different viability markers in live and heat-or UV-killed cells / A. Villarino, O.M.M. Bouvet, B. Regnault, S. Martin-Delautre, P.A.D Grimont // Res. Microbiol. –2000. – P. 755–768.

30.Cotrufo, M.F. The microbial efficiency-matrix stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter? / M.F. Cotrufo, M.D. Wallenstein, C. Boot, K. Denef, E. Paul // Global Change Biol. – 2013. – P. 988–995.

31.Bradford, M.A. Empirical evidence that soil carbon ormination from plant inputs is positively related to microbial growth / M.A. Bradford, A.D. Keiser, C.A. Davies, C.A. Mersmann, M.S. Strickland // Biogeochemistry. – 2013. – P. 271–281.

32.Савостьянова, А.С. Сравнение методов определения микробной биомассы для оценки биологических свойств почвы / А. С. Савостьянова, А. А. Семиколенных // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14. –№ 1(8). – С. 2064–2067.

33.Anderson T.H. Carbon link between microbial biomass and soil organic matter/ T.H. Anderson, K.H. Domsch / Proceedings of the Fourth International Symposium on Microbial Ecology // Eds. F. Megusar, M. Gantar. Ljubljana. Slovene Society for Microbiology. – 1986. – P. 467–471.

34.Hargreaves P.R., Evaluating soil microbial biomass carbon as an indicator of longterm environmental change/ P.R. Hargreaves, P.C. Brookes, G.J.S. Ross, P.R. Poulton / *Soil Biol. Biochem.* – 2003. – P. 401–407.

35.Jordan D. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields/ D. Jordan, R.J. Kremer, W.A. Bergfield, K.Y. Kim, V.N Cacnio / *Biol. Fertil. Soils.* –1995. – № 4. – P. 297–302.

36.Bölter M. Enumiration and biovolume determination of microbial cells – a methodological review and recommendations for applications in ecological research / M. Bölter, J. Bloem, K. Meiners, R. Möller / *Biol. Fertil Soils.* – 2002. – P. 249–259.

37.Winding A. The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts / A.Winding, K. Hund Rinke, M. Rutgers / *Ecotoxicology and Environmental Safety.* – 2005. – P. 230–248.

38.Andrews S.S.Designing a soil quality assessment tool for sustainable agro ecosystem management / S.S Andrews., C.R. Carroll / *Ecological Applications.* –2001. – P. 1573–1585.

39.Knoepp J.D. Biological indices of soil quality: an ecosystem case study of their use / J.D. Knoepp, D.C. Coleman, D.A. Crossley, J.S. Clark / *Forest Ecology and Management.* – 2000. – P. 357–368.

40.Arshad M.A., Identifying critical limits for soil quality indicators in agroecosystems / M.A Arshad, S. Martin / *Agriculture, Ecosystems and Environment.* – 2002. – P. 153–160.

41.Karlen D.L. Soil quality: current concepts and applications / D.L. Karlen, S.S. Andrews, J.W. Doran/ *Advances in Agronomy.* – 2001. – P. 1–40.

42.Benedetti A. Approaches to defining, monitoring, evaluating and managing soil quality / A. Benedetti, O. Dilly / *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality* / Eds. I. Bloem, D.W. Hopkins, A. Benedetti. CABI. Wallingford. – 2006. – P. 3–14.

43. Burns R.G. Microbiological Methods for Assessing Soil Quality / R.G. Burns, P. Nannipieri, A. Benedetti, D.W. Hopkins Defining / Eds. J. Bloem, A. Benedetti and D.W. Hopkins. CABI, Oxfordshire, UK: Wallingford. – 2006. – P. 15–22.

44. Гавриленко, Е.Г. Пространственное варьирование содержания углерода микробной биомассы микробного дыхания почв южного Подмосковья / Е.Г. Гавриленко, Е.А. Сусьян, Н.Д. Ананьева, О.А. Макаров // Почвоведение. – 2011, – № 10. – С. 1231–1245.

45. ISO 16072:2002 Soil quality – Laboratory methods for determination of microbial soil respiration.

46. Rousk, J. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization / J. Rousk, P.C. Brookes, E. Beach // Appl. Environ. Microbiol. – 2009. – P. 1589–1596.

47. Gömöryová, E. Soil microbial characteristics at the monitoring plots on windthrow areas of the Tatra National Park (Slovakia): their assessment as environmental indicators / E. Gömöryová, K. Strelcová, P. Fleischer, D. Gömöry // Environ Monit Assess. – 2011. – P. 31–45.

48. Anderson, T.H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soil / T.H. Anderson, K.H. Domsch // Soil Biol Biochem. – 1993. – P. 393–395.

49. Anderson, T.H. Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories / T.H. Anderson, K.H. Domsch // Soil Biol. Biochem. – 1990. – P. 251–253.

50. Susyan, E.A. Forest succession on abandoned arable soils in European Russia Impacts on microbial biomass, fungal-bacterial ratio, and basal CO<sub>2</sub> respiration activity / E.A. Susyan, S. Wirth, N.D. Ananyeva, E.V. Stolnikova // European Journal of Soil Biology. – 2011. – P. 169–174.

- 51.Ананьева, Н. Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв / Н. Д. Ананьева, Д. Г. Звягинцев. Москва: Наука, 2003.– 223 с.
- 52.Nielsen M.N., Winding A. Microorganisms as indicators of soil health. National environmental research institute. Denmark. Technical report N. 388. – 2002. – P 1–85.
53. Joergensen, R.G. Methods or evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils / R.G. Joergensen, C. Emmerling // Journal of plant nutrition and soil science. – 2006. – P. 295–309.
- 54.Аристовская, Т.В. Микробиология процессов почвообразования / Т.В. Аристовская // Наука, 1980. – С. 12 –55.
55. Богородская, А.В. Сезонная динамика развития микробоценозов и комплексов беспозвоночных на отвалах вскрышных пород Бородинского бурогоугольного разреза (КАТЭК) / А. В. Богородская, Е. Н. Краснощекова, О. В. Трефилова, А. С. Шишкин // География и природные ресурсы. – 2010. – № 4. – С. 36–45.
- 56.Шугалей, Л.С. Биологическая рекультивация нарушенных земель КАТЭКа / Л. С. Шугалей, Г. И. Яшихин, В. К. Дмитриенко. – Красноярск: Изд-во Краснояр. ун-та, 1996. – 186 с.
- 57.Шишов, Л. Л. Классификация и диагностика почв России / Л. Л. Шишов, В. Д. Тонконогов, И. И. Лебедева, М. И. Герасимова – Смоленск: Ойкумена, 2004. – 342 с.
- 58.Моторина, Л. В. Основные направления научных исследований по рекультивации земель в Подмосковном бурогоугольном бассейне / Л. В. Моторина // Научные основы охраны природы, 1973. – С. 86–103.
- 59.Трефилова, О.В. Динамика экологофункциональных параметров реплантоземов на отвалах угольных разрезов Центральной Сибири / О.В

Трефилова, И. Д. Гродницкая, Д. Ю. Ефимов // Почвоведение. – 2014 –. №1. – С. 109–119.

60. Трегубов, Г. А. Рекультивация отвалов Райчихинского бурогольного месторождения / Г. А. Трегубов // Почвоведение. – 1974. – № 1. – С. 121–124.

61. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учеб. пособие / Д.Г. Звягинцев. – Москва: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

62. Мокрушина, Н.С. Биоконверсия древесных отходов методом компостирования с получением органического удобрения / Н.С. Мокрушина, Т.С. Тарасова, И.В. Дармова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2009. – Т. 11, – № 1. С. 228– 231.

63. Беловежец, Л.А. Микробиологические и экологические аспекты переработки вторичного лигноцеллюлозного сырья: автореф. Дис. ... канд. биологических наук : 03.00.16 / Беловежец Людмила Александровна. – Иркутск, 2007. – 22 с.

64. Гродницкая, И.Д. Продукты биоконверсии древесных отходов хвойных в биоремедиации деградированных почв. Строение, свойства и качество древесины / И.Д. Гродницкая, Н.В. Пашенова, О.Э. Кондакова. – Иркутск : Материалы VI Международного симпозиума имени Б.Н. Уголева, посвященного 50-летию Регионального Координационного совета по современным проблемам древесиноведения, 2018. – 68–81 с.

65. Куликова, Н.А. Использование базидиальных грибов в технологиях переработки и утилизации техногенных отходов: фундаментальные и прикладные аспекты (обзор) / Н.А. Куликова, О.И. Кляйн, Е.В. Степанова, О.В. Королева // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. –Т. 47. –№ 6. –С. 619–634.

66. Ленскинова, Л.В. Получение биоудобрения на основе биодеструкции опилок для оптимизации деградированных почв :

автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 06.01.03 / Ленскинова Лариса Викторовна. – Улан-Удэ, 2003. – 22 с.

67. Мокрушина, Н.С. Биоконверсия древесных отходов методом компостирования с получением органического удобрения / Н.С. Мокрушина, Т.С. Тарасова, И.В. Дармов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – №1. – С. 228–232.

68. Сенкевич, О.В. Оценка влияния новых видов вермикомпоста на плодородие агросерой почвы / О.В. Сенкевич, О.А. Ульянова, С.В. Хижняк // Агрохимия. – 2019. – №8. – С. 24–33.

69. Бондарь, П.Н. Использование отходов деревообрабатывающей промышленности для создания биопрепаратов на основе грибов рода *Trichoderma* / П.Н. Бондарь, В.С. Садыкова // Хвойные бореальной зоны. – 2015. – №5–6. – С. 286–290.

70. Литовка, Ю.А. Дереворазрушающие свойства сибирских штаммов *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst / Ю.А. Литовка, И.Н. Павлов, Т.В. Рязанова, А.В. Газизулина, Н.А. Чупрова // Химия растительного сырья. – 2018. – №1. – С. 193–199.

71. Миронов, П.В. Микробиологическая конверсия отходов деревообработки с получением органических удобрений / П.В. Миронов [и др.] // Хвойные бореальной зоны. – 2018. – Т. 36. – № 3. – С. 275–278.

72. Эназарова, Р.Х. Получение органических удобрений способом биоконверсии отходов деревообработки / Р.Х. Эназарова, А.И. Васюкова, А.С. Шишкин // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки. – 2018. – С. 115–117.

73. Пат. 2681572 Российская Федерация, МПК С12Р 1/02, С05F 11/08. Опилочно-почвенный субстрат для оптимизации плодородия почв / Г.И. Антонов, Н.В. Пашенова, И.Д. Гродницкая; Патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр "Красноярский научный центр Сибирского



отделения Российской академии наук" № 2017137294; заявл. 24.10.2017; опубл. 11.03.2019, Бюл.№8. – 9 с.

74.Пашенова, Н.В. Влияние отвара чистотела на биоконверсию сосновых опилок культурами базидиальных грибов-ксилотрофов / Н.В. Пашенова, С.Р. Лоскутов, Г.В. Пермякова, А.А. Анискина // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: матер. IV Всерос. конф. Барнаул. – 2009. – С. 39–41.

75.Миронов, П.В. Микробиологическая конверсия отходов деревопереработки с получением органических удобрений / П.В. Миронов, Е.В. Алаудинова, Р.Х. Эназаров, А.С. Саволайнен // Хвойные бореальной зоны. – 2018. – №3. – С. 275–278.

76. Павлов, И.Н. Биоконверсия отходов лесопереработки ксилотрофным базидиомицетом *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél / И.Н. Павлов, Ю.А. Литовка, В.В. Мулява, И.Е. Сапронова, С.С. Кулаков, Н.В. Пашенова, В.Е. Мулява // АГРОЭКОИНФО. – 2017. – № 28. – 26 с.

77.Colavolpe, M.V. Cultivation requirements and substrate degradation of the edible mushroom *Gymnopilus patreanus* – A novel species for mushroom cultivation / M.V. Colavolpe, E. Albertó // Scientia Horticulturae. – 2014. – P. 161–166.

78.Научно-прикладной справочник по климату СССР. Серия 3. Многолетние данные. Вып.21. Л.: Гидрометеиздат, 1990. – 623 с.

79.Черепнин, Л.М. Флора южной части Красноярского края / Л.М. Черепнин // Красноярск: Изд-во КГПИ. – 1957– 1967. – Т. 1– 6. – 240 с.

80.Снытко, В.А. Почвенно-географическое районирование западного участка КАТЭКа / В.А. Снытко, Ю.М. Семенов, А.В. Мартынов / География и природные ресурсы. – 1982. –№2. – С.32–38.

81.Beare, M.H. A substrate-induced respiration (SIR) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues / M.H. Beare, C.L. Neely, D. Coleman, W. L. Hargrove // Soil Biol Biochem. – 1990. – P. 585–594.

82. Relationship between the amount and the activity of the microbial biomass in Dutch grassland soils: comparison of the fumigation-incubation method and the substrate-induced method/ J. Hassink // *Soil Biol Biochem.* – 1993. – P. 533–538.

83. Ананьева, Н. Д. Углерод микробной биомассы и микробное продуцирование двуокиси углерода дерново-подзолистыми почвами постагрогенных биогеоценозов и коренных ельников южной тайги / Н. Д. Ананьева, Е. А. Сусьян, И. М. Рыжова, Е. О. Бочарникова, Е. В. Стольникова // *Почвоведение*, 2011. – № 10. – С. 1231–1245.

84. Рабинович, М. Л. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Древесина и разрушающие ее грибы / М. Л. Рабинович, А. В. Болобова, В. И. Кондращенко. Москва : Наука, 2001. – 264 с.

85. Anderson, T.H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as, pH, on the microbial biomass of forest soil / T.H. Anderson, K. H. Domsh // *Soil Biol. and Biochem.* – 1993. – P. 393–395.

86. Богородская, А. В. Процессы первичного почвообразования в техногенных экосистемах на отвалах Бородинского бурогольного месторождения (восточная часть КАТЭК) / А. В. Богородская, О. В. Трефилова, А. С. Шишкин // *Вестник Томского государственного университета.* – 2014. – № 382. – С. 214–220.

87. Таранов С. А. Парцеллярная структура фитоценоза и неоднородность молодых почв техногенных ландшафтов / Е. Р. Кандрашин, Ф. А. Фаткулин, М. Г. Шушуева, И. С. Родынюк // *Почвообразование в техногенных ландшафтах.* Новосибирск: Наука, 1979. – С. 19–57.

88. Гродницкая, И. Д. Агрохимические и микробиологические свойства техногенных почв отвалов (Канско-Рыбинская котловина) / И. Д. Гродницкая, О. В. Трефилова, А. С. Шишкин // *Почвоведение.* – 2010. – № 7. – С. 867–878.

89. Мурзакматов, Р. Т. Особенности формирования насаждений на отвалах угольных разрезов в лесостепной зоне / Р. Т. Мурзакматов, А. С. Шишкин, А. Н. Борисов // Сибирский лесной журнал. – 2018. – № 1. – С. 37–49.

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии

Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ  
/Заведующий кафедрой

 Т.Г. Волова  
« 06 » июля 20 20 г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Микробиологическая индикация почвогрунтов  
разновозрастных отвалов Бородинского бурогольного  
разреза и использование биоудобрений для повышения их  
продуктивности

06.04.01 Биология

06.04.01.00.09 Фундаментальная и прикладная биология

Научный руководитель



подпись

д.б.н., профессор  
ученая степень, должность

Гродницкая И.Д.  
фамилия, инициалы

Научный консультант



подпись

к.б.н., с.н.с  
ученая степень, должность

Богородская А.В.  
фамилия, инициалы

Студент



подпись

ББ18-09М  
номер группы

№ 041834093  
номер зачетной книжки

Салимгареева Ю.Р.  
фамилия, инициалы

Рецензент



подпись

д.б.н., профессор  
ученая степень, должность

Безкоровойная И.Н.  
фамилия, инициалы

Красноярск 2020 г.