

На правах рукописи



Казарцев Игорь Александрович

**ОСОБЕННОСТИ РАЗЛОЖЕНИЯ ДРЕВЕСИНЫ ГРИБАМИ,
ВЫЗЫВАЮЩИМИ КОРРОЗИЮ И ДЕЛИГНИФИКАЦИЮ**

03.02.08 – "Экология"

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2010

Введение

Актуальность темы. Большой интерес для науки и промышленности представляет уникальная группа ксилотрофных грибов (КТГ), вызывающих коррозию и делигнификацию древесины. От других грибов их отличает способность к синтезу оксидазных ферментов, позволяющих разрушать лигнин, являющийся наиболее устойчивым компонентом клеточной стенки [Головлева, Мальцева, 1986; Crowford, 1981; Kirk, Farrell, 1987; Cullen, Kersten, 2004]. Неспецифический характер действия и высокий окислительный потенциал этих ферментов позволяет использовать их для разрушения органических ксенобиотиков (диоксинов, пентахлорфенолов, полиароматических углеводородов), очистки сточных вод пищевых, текстильных и целлюлозно-бумажных фабрик [Bezalel et al., 1996; Eggen, Majcherczyk, 1998; Lamar et al., 1999; Raghukumar, Rivonkar, 2001]. В лесопромышленном комплексе ферменты лигнинразрушающих грибов можно использовать для биологической отбелки целлюлозы [Александрова, Медведева, 1999; Jasper et al., 1994], а также получения модифицированной древесины с заданными свойствами и древесностружечных плит [Кадималиев и др., 2001; Рабинович и др., 2001], не требующих применения синтетических смол. Древесные отходы лесопромышленного комплекса, прошедшие предварительный процесс ферментации, можно использовать в энергетике для получения этанола [Kim, Dale, 2004; Dashtban et al., 2009], а в сельском хозяйстве – для кормления домашних жвачных животных [Малышева и др., 1986; Alborés et al., 2006]. Особый интерес представляют грибы, избирательно разрушающие лигнин с сохранением целлюлозного компонента древесины, получившие название биоделигнификаторов. Использование таких организмов может существенно изменить технологические схемы производства бумаги и целлюлозных полуфабрикатов, наносящие непоправимый ущерб природе [Соловьев, 1986; Kirk et al., 1997]. В этом направлении с 1985 г. в России интенсивно изучается *Phanerochaete sanguinea* (Fr.) Pouzar [Соловьев и др., 1985], а за рубежом с 1990 г. – *Ceriporiopsis subvermispora* (Pilat) Gilb. et Ryvarden [Setliff et al., 1990].

Современная классификация грибов по типам гнили указывает на разные способы воздействия грибов на древесину – главный продукт леса, но о вкладе отдельного типа разложения в общий поток редукции органического вещества в лесных экосистемах известно мало. Поэтому необходимо детальное изучение грибов, вызывающих коррозию и делигнификацию, для выяснения их функции в лесных экосистемах, а также для всестороннего практического использования в биотехнологиях.

Цель и задачи исследования. Цель работы заключалась в сравнении особенностей разложения химических компонентов древесины под действием типичных лигнинразрушающих грибов, вызывающих два типа ксилолиза – делигнификацию (*Ceriporiopsis subvermispora*, *Phanerochaete sanguinea*) и коррозию (*Trametes pubescens* (Schumach.) Pilat, *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst.).

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить потенциальную скорость разложения древесины КТГ.
2. Определить скорость и избирательность разложения лигнина под действием КТГ.
3. Уточнить особенности разложения углеводного комплекса древесины, главным образом ее гемицеллюлозной составляющей, в процессе микогенного ксилолиза.
4. Подобрать адекватные задачам методики определения компонентов древесины.

Научная новизна. Впервые проведено сравнение способности штаммов *Ceriporiopsis subvermispora* L-14807 и *Phanerochaete sanguinea* 16-65, считающихся наиболее эффективными делигнификаторами, к избирательному разложению лигнина в древесине хвойных (на примере *Picea abies*) и лиственных (на примере *Populus tremula*) пород.

Получены данные по кинетике микогенного ксилолиза образцов и последовательности разложения компонентов древесины двумя группами КТГ – грибами, вызывающими делигнификацию (*C. subvermispora* L-14807, *P. sanguinea* 16-65) и коррозию (*T. pubescens* 5-08, *B. adusta* 13-07).

Показано, что избирательность разложения субстрата грибами-делигнификаторами предопределена не только особенностями организмов, но и особенностями лигноцеллюлозного субстрата. Впервые установлено, что интенсивная делигнификация древесины лиственных пород сопровождается активным потреблением ксилозы, входящей в состав глюкуроноксианового гемицеллюлозного комплекса. Делигнификация ели, где содержание ксилозы в несколько раз меньше, идет менее интенсивно. При разложении осиновой древесины грибами, вызывающими коррозию, ксилоза потребляется одновременно с остальными компонентами, и, по-видимому, не представляет для них исключительной пищевой ценности.

Предложены модели для определения степени разложения лигнина в зависимости от времени или стадии ксилолиза древесины, которые могут быть использованы для расчета параметров разложения и других компонентов древесины.

Полученные данные, свидетельствующие о принципиальном отличии грибов, вызывающих коррозию и делигнификацию, уточняют типологию древесных гнилей и критерии их разделения.

Показано, что *P. sanguinea* неспецифичен к древесной породе и развивается преимущественно на мелком древесном субстрате.

Практическая ценность работы. Для качественной и количественной оценки углеводного состава древесины на разных стадиях микогенного ксилолиза был модифицирован метод определения ацетатов альдонитрилов моносахаридов.

Получены модели, позволяющие рассчитать потребление компонентов древесины КТГ в зависимости от потери массы, а также от времени. Модели могут быть использованы для контроля за биотехнологическими процессами при получении древесной массы, обогащенной целлюлозой.

Показано, что *P. sanguinea* 16-65 обладает всеми необходимыми свойствами для эффективного использования в биотехнологии для предобработки щепы с целью получения древесной массы, обогащенной целлюлозой.

Апробация работы. Результаты исследований неоднократно обсуждались на ежегодных научно-технических конференциях СПбГЛТА. Материалы работы доложены на конференции International Academy of Wood Science "Forest as a renewable source of vital values for changing world" (Санкт-Петербург, 2009), Всероссийской конференции молодых ученых "Молодые исследователи – регионам" (Вологда, 2009), IV Всероссийской конференции "Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья" (Барнаул, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ (в том числе 2 работы в издании из списка ВАК).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 121 странице, состоит из введения, 5 глав, выводов и 3 приложений. Список литературы включает 163 наименования, в том числе 113 на иностранных языках. Текст иллюстрирован 11 таблицами и 22 рисунками.

Личное участие автора в получении научных результатов. Работа выполнена в период прохождения аспирантуры в 2006–2009 годах. Личный вклад автора состоит в подготовке и проведении экспериментов, математической обработке полученных данных, их интерпретации и обобщении.

Глава 1. Обзор литературы по изучаемой проблеме

В последние десятилетия особое внимание уделялось изучению КТГ в связи с их ролью в лесных экосистемах и возможностью их использования в биотехнологиях. Выяснилось, что в лесной подстилке наравне с прочими типами разложения отмечают процессы аналогичные коррозии и делигнификации [Стороженко и др., 1996; Lindeberg, 1944; Harris, 1945; Osono, Takeda, 2006].

В биотехнологии были получены положительные результаты с использованием лигнинразрушающих грибов по многим направлениям, в том числе там, где необходима избирательная делигнификация древесины [Рабинович, 2000; Bar-Lev et al, 1982; Blanchette et al., 1988; Leatham, Myers, 1990; Akhtar et al., 1997; Akhtar et al., 1998; Pointing, 2001; Hunt et al., 2004]. Были отобраны и интенсивно изучаются несколько видов. Особенно детально в России изучается *P. sanguinea*, а за границей – *C. subvermispora*. Однако сравнение особенностей разложения лигноцеллюлозного субстрата этими грибами не проводилось.

Установлено, что для разложения лигнина необходим косубстрат, которым могут служить некоторые гемицеллюлозы [Ander, Eriksson, 1976; Kirk, Shimada, 1985]. Прямые определения изменений в содержании отдельных гемицеллюлоз в отношении делигнификаторов являются очень скудными [Kirk, Moore, 1972; Zabel, Morrell, 1992; Kirk et al., 1997]. Такие данные могли бы объяснить избирательность разложения лигнина при

биоделигнификации и найти критерии различия коррозии и делигнификации как типов микогенного ксилолиза.

Глава 2. Методика исследований

Ксилолиз образцов в чистой культуре. Для эксперимента были использованы образцы древесины размером 30x20x5 мм (тангентальный × радиальный × продольный размеры), полученные из периферической части заболони ели (*Picea abies*) и осины (*Populus tremula*). После достижения равновесной влажности в комнатных условиях образцы взвешивали и для 10 % определяли среднюю влажность для последующего расчета абсолютно сухой массы остальных образцов. Все опытные образцы пропитывались водопроводной водой в течение трех дней, после чего их раскладывали на фильтровальную бумагу в чашки Петри и стерилизовали текучим паром три раза по 1 часу через каждые сутки.

В стеклянные банки объемом 200 мл насыпали вермикулит на 1/3 объема и заливали неохмеленным пивным суслом, разведенным водой в соотношении 1:3. Банки со средой стерилизовали сначала текучим паром 20 мин, затем при давлении 1,0 ати 20 мин. Среду заражали осиновыми и еловыми кубиками, проросшими мицелием исследуемого гриба. В работе использовались штаммы *P. sanguinea* 16-65, *T. pubescens* 5-08 и *B. adusta* 13-07, хранящиеся в коллекции культур кафедры общей экологии, анатомии и физиологии растений СПбГЛТА. *C. subvermispora* штамм L-14807 получен из Forest Product Laboratory (USA, Madison, Department of Agriculture).

Через три недели на разросшийся мицелий помещали по одному образцу осиновой или еловой древесины в каждую банку. Банки выдерживали в термостате при температуре 27 °С. Отбор образцов, разлагаемых делигнификаторами (*P. sanguinea* 16-65, *C. subvermispora* L-14807), для определения потери массы проводился на 7, 21, 52, 80, 120 и 196 день эксперимента. В опыте с грибами, вызывающими коррозию, отбор образцов проводили на 10, 25, 40, 70 и 100 день. Так как в природных условиях для *B. adusta* и *T. pubescens* еловая древесина не является типичным субстратом, исследования кинетики разложения под действием грибов, вызывающих коррозию, проведены только на образцах осины. В положенный для каждого штамма срок снимали 10 образцов одной древесной породы, тщательно очищали их от воздушного мицелия и сушили при температуре 104 °С. Затем взвешивали и вычисляли потерю массы отдельного образца в процентах, среднюю потерю массы всех образцов за каждый срок и ошибку среднего арифметического.

Для описания ксилолиза под действием грибов, вызывающих коррозию и делигнификацию, использовали две эскизные модели [Соловьев, Малышева, 2004], параметры которых рассчитывались в программе STATGRAPHICS Centurion XV версия 15.2.11 в режиме нелинейной регрессии.

Гидролиз древесины. Подготовленные для дальнейшей работы образцы измельчали и просеивали через сито с диаметром ячейки 1 мм. Навеску воздушно-сухих опилок массой 0,5

г обессмоливали диэтиловым эфиром, после чего помещали в коническую колбу объемом 250 мл. К навеске добавляли 5 мл 72 %-ной серной кислоты, плотно закрывали пробкой и выдерживали в термостате при температуре 24 °С 2,5 часа, периодически перемешивая содержимое колбы во избежание образования комков. Затем в смесь добавляли 75 мл дистиллированной воды и кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Частицам давали укрупниться и осесть.

Определение лигнина. Фильтрование раствора осуществляли через сложенные вместе два уравновешенных на аналитических весах бумажных фильтра, объем фильтрата доводили до 100 мл. Фильтры с осадком лигнина промывали горячей дистиллированной водой до полного удаления кислоты. Фильтры высушивали до постоянной массы, и взвешивали верхний фильтр с лигнином, помещая нижний фильтр на чашу аналитических весов с разновесами. Абсолютно сухую массу лигнина определяли как разность масс верхнего (с осадком лигнина) и нижнего фильтра. Содержание лигнина определяли как отношение его постоянной массы к абсолютно сухой массе навески. Данные по содержанию лигнина в древесине на разных стадиях разложения, были пересчитаны в потери от его первоначального содержания в исходном образце:

$$\delta_L = 100 - (100 - \delta) * K / K_0, \quad (1)$$

где δ_L —потеря массы лигнина, %; δ —потеря массы древесины, %; K_0, K —содержание лигнина в исходной древесине и после воздействия культурой гриба, %.

Определение инвертированных сахаров (моносахаридов). В отобранной из раствора пробе объемом 10 мл проводили синтез ацетатов альдонитрилов углеводов [Микельсон и др., 1980]. В качестве внутреннего стандарта использовали 1 мл инозита (1,5 %). Анализ полученной смеси проводили на хроматомасс-спектрометре G2577A GS/MSD (Agilent Technologies, США). В анализе использовали кварцевую капиллярную колонку HP-5MS 30000x0,25 мм с фазой 0,25 мкм, газ-носитель-гелий со скоростью потока 1 см³/мин, энергия ионизации 70 эВ, температура источника ионов 230 °С, температура квадрупольного фильтра 150 °С. Анализ проводили, начиная со 150 °С повышая температуру на 5 °С каждую минуту до 250 °С. Объем вводимой пробы составлял 0,2 мкл. В этом режиме наблюдалось полное разделение пиков моносахаридов арабинозы, ксилозы, маннозы, глюкозы, галактозы, как в искусственных растворах, так и в пробах, полученных из гидролизованной древесины.

Для расчета количества инвертированных сахаров в анализируемой пробе использовали калибровочные уравнения. Содержание моносахаридов в разложенной древесине определяли по формуле:

$$A = m_i * V * 100 / (m_n * V_0), \quad (2)$$

где A —содержание моносахарида в образце древесины, %; m_i —количество моносахарида в пробе, мг; m_n —масса навески древесины, мг; V —объем гидролизата, мл (100 мл); V_0 —объем анализируемой пробы, мл (10 мл).

Зная содержание моносахаридов в анализируемом образце, определяли их остаток по формуле:

$$r = (100 - \delta) * K / K_0, \quad (3)$$

где r —остаток моносахарида, %; δ —потеря массы образца, %; K_0, K —содержание моносахарида в исходной древесине и после воздействия культурой гриба, %.

Дополнительно были проведены анализы химического состава древесины ели (*Picea obovata*), разложенной грибом *Phellopilus nigrolimitatus* (Romell) Niemelä, T. Wagner et M. Fisch. в природных условиях. Из разложенной древесины пинцетом выбирали участки делигнифицированной древесины. В результате были получены две разнородные фракции, которые по отдельности размалывали и подвергали последующему определению лигнина и углеводов, по общей для всех древесных субстратов методике.

Полевые исследования. Для определения встречаемости *P. sanguinea*, как частоты находок в природных условиях, использовалась методика непровешенной ходовой линии. Исследования проводились в еловых и сосновых насаждениях III-IV класса возраста с примесью осины и березы, в основном кисличных, черничных свежих, влажных и чернично-щитовниковых типах леса. Образцы пораженной грибом древесины выявляли по кроваво-красной окраске, обычно появляющейся при механических повреждениях или неблагоприятных для гриба условиях. В образцах измеряли поперечный диаметр штангенциркулем, в деформированных – периметр на поперечном разрезе (ниткой) и вычислялся диаметр окружности недеформированного образца.

Глава 3. Ксилолиз образцов грибами, вызывающими коррозию и делигнификацию

3.1. Потери массы древесины

Характеристикой разрушительной способности КТГ является вызываемая ими потеря массы древесины в лабораторных условиях. За одинаковые интервалы времени *C. subvermispora* L-14807 был способен разрушать образцы сильнее, чем *P. sanguinea* 16-65. Эта тенденция одинаково прослеживается при разложении образцов ели и осины (рис. 1 а, б).

На последнем сроке эксперимента ксилолиз еловых образцов под действием *P. sanguinea* 16-65 проходил быстрее, чем осиновых (осина 23 %; ель 38 %). Разложение еловых и осиновых образцов под действием *C. subvermispora* L-14807 протекало одинаково. За 196 дней этот гриб был способен разрушить древесину ели на 54 %, а осины на 58 %. Ошибки среднего арифметического, рассчитанные для *P. sanguinea* 16-65, на всех сроках были на порядок ниже, чем у *C. subvermispora* L-14807, что можно объяснить большей стабильностью развития заражения, вызываемого этим грибом.

Потери массы образцов, полученные на последнем сроке опыта с делигнификаторами на обеих породах, характеризуются значительным увеличением ошибки среднего арифметического. Это можно объяснить высушиванием образцов за продолжительный период культивирования, который составил 190 дней. Недостаток влаги в образце может замедлить

ксилолиз и привести к значительным расхождениям кинетических кривых разложения, а также является основным фактором, снижающим максимальную потерю массы.

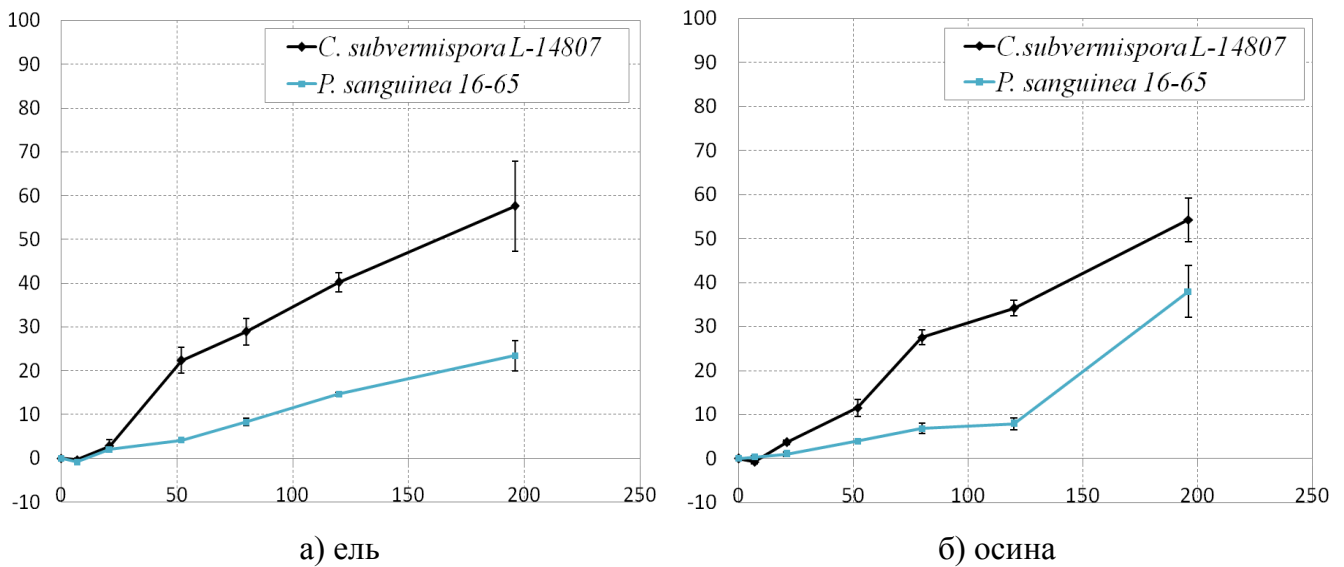


Рис.1. Разложение образцов грибами, вызывающими делигнификацию: по оси абсцисс – время, сутки; по оси ординат – потеря массы древесины, %.

В целом делигнификаторы разрушали древесину значительно медленнее грибов, вызывающих коррозию. Из грибов коррозии наибольшими темпами разрушения обладал *T. pubescens* 5-08. Благодаря высокой интенсивности разложения грибами, вызывающими коррозию, потери массы образцов от срока к сроку характеризуются небольшими ошибками среднего арифметического (рис. 2). Метаболическая вода, выделявшаяся в результате окисления органических веществ, могла препятствовать высыханию образцов.

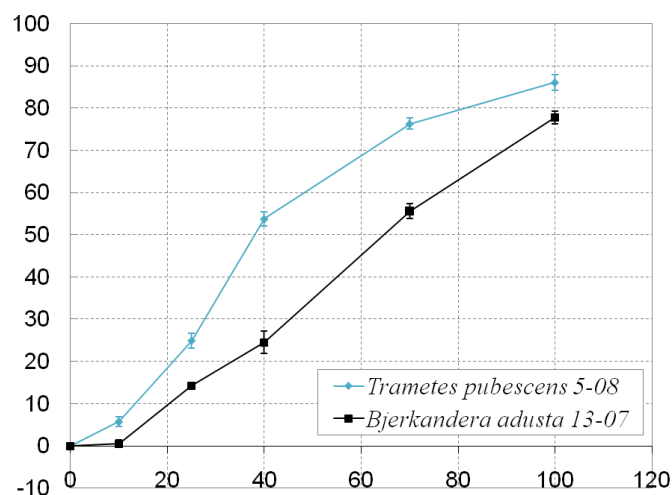


Рис.2. Разложение образцов осины грибами, вызывающими коррозию: по оси абсцисс – время, сутки; по оси ординат – потеря массы древесины, %.

3.2. Модели микогенного ксилолиза

Определив потери массы древесины, вызываемые грибами коррозии и делигнификации на разных сроках культивирования, можно рассчитать удельные скорости разложения каждой породы под действием изучаемых грибов. Для описания кинетических кривых микогенного ксилолиза используем две модели:

$$\delta = \delta_{\max} * (1 - \exp(-k_2 * t)), \quad (4)$$

$$\delta = \delta_{\max} * (k_1 * (1 - \exp(-k_2 * t)) - k_2 * (1 - \exp(-k_1 * t))) / (k_1 - k_2), \quad (5)$$

где δ —потеря массы древесины, %; δ_{\max} —максимальная потеря массы древесины, %; t —время разложения, сутки; k_1, k_2 —удельные скорости микогенного ксилолиза.

Модель 4 исключает индукционную (время, необходимое инокулуму для проникновения в субстрат) и латентную (время, необходимое для полного освоения субстрата) фазы, поэтому, используя эту модель, мы рассматриваем преимущественно период регулярного ксилолиза. Время начала разложения древесины (индукционное время) по этой модели может наступать позже, чем это происходит согласно экспериментальным данным. Максимальная потеря массы приходится именно на период регулярного ксилолиза, поэтому выбранная модель будет достоверно описывать разложение древесины в зависимости от времени. Модель 4 универсальна и может использоваться для описания всех типов микогенного ксилолиза. Модель 5 обладает преимуществом, так как учитывает время, необходимое мицелию для освоения субстрата.

Для модели 4 индукционное время (t_0) рассчитывали по экспериментальным данным. В модели 5 индукционное время рассчитывали, либо принимали равным 0. Максимальную потерю массы для всех моделей рассчитывали по экспериментальным точкам, либо, дополнительно задавали равной 100 %. Отбор подходящих моделей осуществляли не только величиной R^2 , но и характером расположения точек относительно кривой. Параметры, описывающие ксилолиз грибами, вызывающими коррозию и делигнификацию, представлены в табл. 1.

На основании высокого значения коэффициента детерминации (R^2), показывающего, какой процент изменчивости объясняет выбранная модель, можно сделать вывод, что все предложенные модели удовлетворительно описывают ксилолиз. Более точной оказалась модель 5 с введенными параметрами индукционного времени (t_0) и максимальной потерей массы (δ_{\max}), рассчитанной по экспериментальным точкам. Однако расположение кривой относительно экспериментальных точек не всегда соответствует логике ксилолиза. В этом случае исключение индукционного времени позволяет добиться адекватного расположения кривой, при этом коэффициент детерминации (R^2) снижается незначительно. Все предложенные варианты модели 5 удовлетворительно описывают экспериментальные точки и подходят для описания процессов коррозии и делигнификации (R^2 не менее 90 %). Они могут использоваться при необходимости подробного описания многостадийного процесса

разрушения древесины под действием КТГ, включающего захват, обрастание, регулярный ксилолиз и стационарную фазу.

Таблица 1

Кинетика ксилолиза под действием грибов, вызывающих коррозию и делигнификацию

Вид и штамм гриба	Древесина/ тип ксилолиза	Модель	t_0 , сутки	δ_{max} , %	$k_1 \times 10^{-3}$, сутки ⁻¹	$k_2 \times 10^{-3}$, сутки ⁻¹	R^2 , %
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Phanerochaete sanguinea</i> 16-65	осина/ делигнификация	1	14,1	100	–	1,4	99,2
		2	-0,3	45,7	24,2	4,8	99,4
		2	0	51,3	27,8	3,9	99,4
<i>Phanerochaete sanguinea</i> 16-65	ель/ делигнификация	1	25,1	100	–	2,0	79,8
		2	0	100	5,9	5,9	90,2
<i>Ceriporiopsis subvermispора</i> L-14807	осина/делигнификация	1	9,7	83,3	–	6,2	99,2
		2	0	79,7	82,6	6,9	99,0
<i>Ceriporiopsis subvermispора</i> L-14807	ель/ делигнификация	1	12,0	100	–	4,1	98,7
		2	5,1	92,8	71,6	4,9	98,9
		2	0	87,5	44,7	5,6	98,8
<i>Trametes pubescens</i> 5-08	осина/ коррозия	1	8,4	100	–	22,3	98,8
		2	3,8	89,1	53,4	53,4	99,6
		2	0	92,3	45,4	45,5	99,3
<i>Bjerkandera adusta</i> 13-07	осина/ коррозия	1	12,7	100	–	14,2	96,8
		2	5,0	100	29,0	29,1	99,6
		2	0	100	26,5	26,6	99,1
Модели:							
1 $\delta = \delta_{max} * (1 - \exp(-k_2 * t))$							
2 $\delta = \delta_{max} * (k_1 * (1 - \exp(-k_2 * t)) - k_2 * (1 - \exp(-k_1 * t))) / (k_1 - k_2)$							

Когда необходимо сравнить скорости разложения субстрата различными КТГ, удобнее воспользоваться экспоненциальной моделью с заданным индукционным временем (t_0), так как она содержит только один параметр, характеризующий удельную скорость (k_2). Согласно полученным данным удельная скорость разложения осиновых и еловых образцов грибом *C. subvermispора* L-14807 (осина $k_2 = 6,2 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹; ель $k_2 = 4,1 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹) была значительно выше, чем *P. sanguinea* 16-65 (осина $k_2 = 1,4 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹; ель $k_2 = 2,0 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹). Удельные скорости разложения древесины делигнификаторами оказались существенно ниже, чем грибами *T. pubescens* 5-08 ($k_2 = 22,3 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹) и *B. adusta* 13-07 ($k_2 = 14,2 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹), вызывающими коррозию.

При сравнении параметров удельной скорости необходимо иметь в виду, что сравнивать их можно только в пределах идентичных моделей. Параметры k_1 , k_2 , t_0 и δ_{max} очень чувствительны к условиям опыта и могут изменяться в широких пределах в зависимости не только от штамма гриба, но также температуры, влажности и других факторов.

Различная скорость ксилолиза, продемонстрированная грибами, вызывающими делигнификацию и коррозию, вероятно, продиктована ферментативными процессами разной интенсивности, протекающими в этих грибах, а также порядком включения ферментов в

работу. Все исследуемые грибы обладают полным набором оксидазных и гидролазных ферментов, характерным для лигнинразрушающих грибов. Однако, считается, что основным фронт разрушения грибов-делигнификаторов направлен на разрушение лигнина, в то время как грибы, вызывающие коррозию, удаляют лигнин одновременно с другими химическими компонентами древесины. Для выяснения особенностей разложения лигноуглеводного комплекса древесины под действием изучаемых грибов проведены исследования по определению лигнина и углеводов, входящих в состав древесины, на разных стадиях ксилолиза.

Глава 4. Разложение компонентов древесины грибами, вызывающими коррозию и делигнификацию

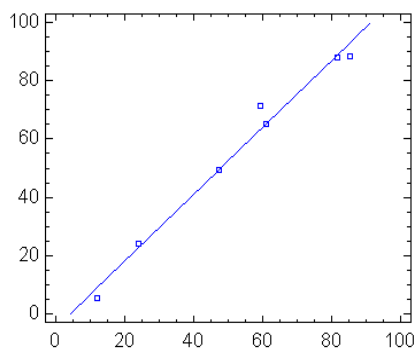
4.1. Разложение лигнина

Потери лигнина, вызываемые грибами *B. adusta* 13-07 и *T. pubescens* 5-08 в осиновой древесине на разных стадиях ксилолиза, представлены на рис. 3 (а, б). Разложение лигнина этими грибами осуществляется прямо пропорционально потере массы древесины и имеет линейную зависимость. Существенных отличий в разложении лигнина *B. adusta* 13-07 и *T. pubescens* 5-08 не выявлено.

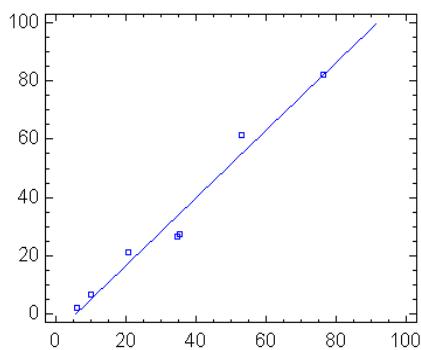
P. sanguinea 16-65 вызывает хорошо выраженную делигнификацию осиновой древесины (рис. 3 в) и менее выраженную – еловой (рис. 3 г). Среди всех изученных грибов этот штамм оказался способным вызывать существенные потери лигнина при незначительных потерях массы древесины. Практически полная делигнификация осиновых образцов (потеря лигнина 96 %) была зафиксирована при 34 % потере массы древесины. В ели, при схожих потерях массы, происходит лишь частичное удаление лигнина. Так при разложении еловой древесины на 37 % потери лигнина составили 76 %. По-видимому, характер разрушения древесины значительно зависит от типа лигноцеллюлозного субстрата.

Разрушение лигнина по отношению к общей потере массы грибом *C. subvermispora* L-14807 осуществляется менее интенсивно, чем *P. sanguinea* 16-65 (рис. 3 д, е). В осиновой древесине, разложенной на 38 %, потери лигнина достигали 70 %. При потерях массы еловой древесины, составивших 33 %, лигнин был разрушен на 60 %. Таким образом, закономерность разложения лигноцеллюлозного субстрата делигнификаторами проявляется в том, что лигнин в хвойных разрушается менее избирательно, чем в лиственных породах.

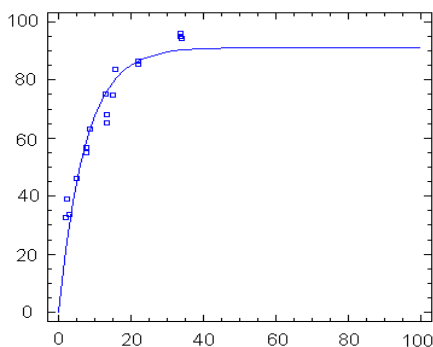
Незначительная скорость разложения древесного субстрата делигнификаторами во многом предопределена избирательным характером разрушения лигнина. По-видимому, медленное разрушение древесины, которое наблюдается при делигнификации, связано с периодом преимущественного разрушения лигнина, что требует затрат времени и энергии.



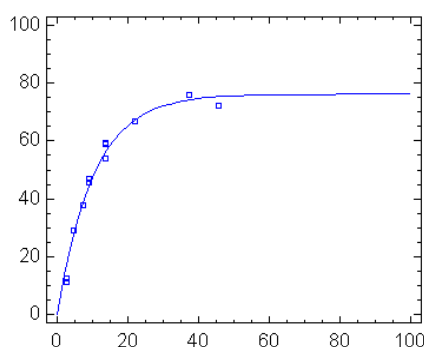
а) *B. adusta* 13-07, осина (модель 6*)



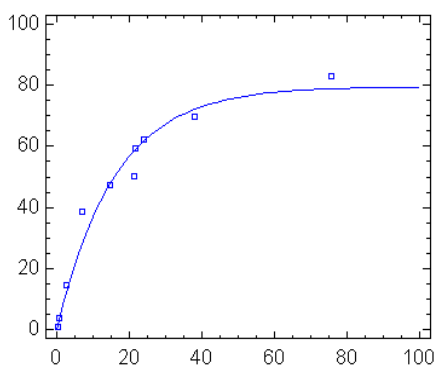
б) *T. pubescens* 5-08, осина (модель 6)



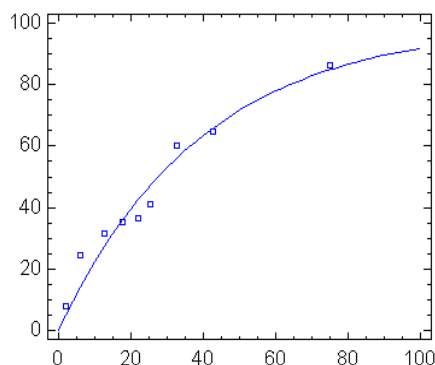
в) *P. sanguinea* 16-65, осина (модель 7)



г) *P. sanguinea* 16-65, ель (модель 7)



д) *C. subvermispora* L-14807, осина (модель 7)



е) *C. subvermispora* L-14807, ель (модель 7)

Рис. 3. Потери лигнина, вызываемые грибами коррозии (а, б) и делигнификации (в, г, д, е) на разных стадиях ксилотолиза: по оси абсцисс – потеря массы древесины, %; по оси ординат – потеря массы лигнина, %.

Как выяснилось, в некоторых случаях грибы способны вызывать практически полную делигнификацию древесины. А это значит, что в лесных экосистемах целлюлозная составляющая древесины становится доступна многочисленным ассоциациям целлюлолитических организмов, которые могут разрушать ее совместно с делигнификатором в качестве комменсалов или активно конкурируя с ним.

* Модели, использованные для аппроксимации экспериментальных точек.

4.2. Эскизные модели микогенного разложения лигнина

Для грибов, вызывающих коррозию, характерна линейная зависимость потери массы лигнина от потери массы древесины, поэтому разложение лигнина мы будем описывать моделью 6 (рис. 3 а, б):

$$\delta_L = j * (\delta - \delta_0), \quad (6)$$

где δ_L – потеря массы лигнина, %; δ – потеря массы древесины, %; δ_0 – потеря массы древесины, при которой начинается разложение лигнина, %; j – константа разложения лигнина.

Точка пересечения линейной функции с осью абсцисс δ_0 показывает, что разложение лигнина наступает не сразу, а только после наступления определенной стадии ксилолиза. Поэтому для грибов *T. pubescens* 5-08 и *B. adusta* 13-07 разложение лигнина, согласно модели 6, наступает при потерях массы древесины 5,8 и 4,3 % соответственно (табл. 2). Константа разложения лигнина (j) является соотношением между потерей лигнина и потерей массы древесины. Недостатком линейной модели следует признать невозможность задать в ней максимальную потерю массы лигнина (δ_{Lmax}).

Таблица 2

Параметры разложения лигнина грибами, вызывающими коррозию

Древесина/ параметры моделей ксилолиза	δ_0 , %	j	R^2	станд. ошибка
1	2	3	4	5
<i>Bjerkandera adusta</i> 13-07				
заболонь осины/ $\delta_{max}=100$ %; $k=14,2*10^{-3}$ сутки $^{-1}$; $t_0=12,7$ суток	4,3	1,15	98,8	0,027
<i>Trametes pubescens</i> 5-08				
заболонь осины/ $\delta_{max}=100$ %; $k=22,3*10^{-3}$ сутки $^{-1}$; $t_0=8,4$ суток	5,8	1,16	96,9	0,054

Зависимость деструкции лигнина от степени разложения древесины под действием делигнификаторов может быть описана экспоненциальной моделью 7 (см. рис. 3 в, г, д, е):

$$\delta_L = \delta_{Lmax} * (1 - \exp(-i * \delta)), \quad (7)$$

где δ_L – потеря массы лигнина, %; δ_{Lmax} – максимальная потеря лигнина, %; δ – потеря массы древесины, %; i – константа разложения лигнина.

Константа разложения лигнина (i) характеризует изменение потери лигнина по отношению к изменению потери массы древесины под действием грибов, вызывающих делигнификацию, и соответствует дифференциальному выражению: $i = d\delta_L / d\delta * \delta_L$. В модели 7 можно определить максимальную потерю массы лигнина (δ_{Lmax}), которая вычислялась по экспериментальным точкам, кроме случая с разложением ели грибом *C. subvermispora* L-14807, где δ_{Lmax} приняли равным 100 % (табл. 3).

Константу разложения лигнина (i), вычисленную по модели 7, нельзя сравнивать с j , рассчитанной по модели 6 и имеющей другой математический смысл. В отличие от констант

разложения древесины (k_1 , k_2), которые зависят от многих условий и изменяются в больших пределах для одного штамма, константы разложения лигнина (i , j), определенные для каждого штамма на одной породе, постоянны и являются перманентными характеристиками исследуемых объектов.

Таблица 3

Параметры разложения лигнина грибами, вызывающими делигнификацию

Древесина/ параметры моделей ксилолиза	δ_{Lmax} , %	$i \times 10^{-2}$	R^2	станд. ошибка
1	2	3	4	5
<i>Phanerochaete sanguinea</i> 16-65				
заболонь осины/ $\delta_{max}=100$ %; $k_2=1,4 \cdot 10^{-3}$ сутки $^{-1}$; $t_0=14,1$ суток	91,1	13,5	91,3	0,015
заболонь ели/ $\delta_{max}=100$ %; $k_2=2,0 \cdot 10^{-3}$ сутки $^{-1}$; $t_0=25,1$ суток	76,2	9,7	97,6	0,008
<i>Ceriporiopsis subvermispota</i> L-14807				
заболонь осины/ $\delta_{max}=83,3$ %; $k_2=6,2 \cdot 10^{-3}$ сутки $^{-1}$; $t_0=9,7$ суток	79,6	6,2	97,2	0,009
заболонь ели/ $\delta_{max}=100$ %; $k_2=4,1 \cdot 10^{-3}$ сутки $^{-1}$; $t_0=12,0$ суток	100,0	2,5	94,9	0,002

Получив константы i и j , можно рассчитать потери лигнина во времени. Для этого в моделях 6, 7 заменим значение потери массы (δ) на ее математическое тождество, соответствующее экспоненциальному выражению (4), получив зависимость разложения лигнина грибами, вызывающими коррозию (8) и делигнификацию (9), от времени:

$$\delta_L = j * (\delta_{max} * (1 - \exp(-k * (t - t_0))) - \delta_0) \quad (8)$$

$$\delta_L = \delta_{Lmax} * (1 - \exp(-i * \delta_{max} * (1 - \exp(-k * (t - t_0)))) \quad (9)$$

В этих моделях дополнительно учтены параметры t_0 , δ_{max} и k_2 , рассчитанные для изучаемых грибов в главе, посвященной кинетике микогенного ксилолиза образцов. Таким образом, модели будут содержать значения времени, необходимого инокулюму для заражения древесного субстрата и индукции его разложения. Поэтому разложение лигнина будет наступать для всех грибов по-разному в соответствии с принятым t_0 . В модели 8 дополнительно введен параметр δ_0 , учитывающий задержку при разложении лигнина грибами, вызывающими коррозию.

Из результатов моделирования следует, что грибы, вызывающие коррозию, разрушают лигнин несколько быстрее делигнификаторов (рис. 4). Это происходит благодаря высокой скорости ксилолиза, характерной для всех грибов коррозии. Наибольшей скоростью разложения лигнина обладает *T. pubescens* 5-08. Медленнее разрушал лигнин гриб *B. adusta* 13-07. *C. subvermispota* L-14807 приступал к делигнификации быстрее всех остальных грибов и в начале вызывал большие потери лигнина. Несмотря на это, потери лигнина, вызываемые *P. sanguinea* 16-65, со временем оказывались выше.

Разрушение лигнина ели оказалось более трудной задачей для делигнификаторов. Оба гриба разрушали его гораздо медленнее, чем лигнин, содержащийся в образцах осины. По-видимому, это объясняется тем, что лигнин в древесине хвойных состоит преимущественно из гваяцилпропановых структурных единиц, которые хуже разрушаются КТГ [Faix et al., 1985].

Грибы, вызывающие коррозию и делигнификацию, одинаково перспективны для использования в биотехнологии. В процессах, где необходима высокая скорость утилизации органических отходов и загрязнений, производительная и неспецифичная ферментативная система грибов, вызывающих коррозию, может оказаться незаменимой. При селективном удалении лигнина из древесного субстрата с целью получения древесной массы, обогащенной целлюлозой, следует использовать природные особенности грибов-делигнификаторов, обладающих большей избирательностью при разложении лигнина.

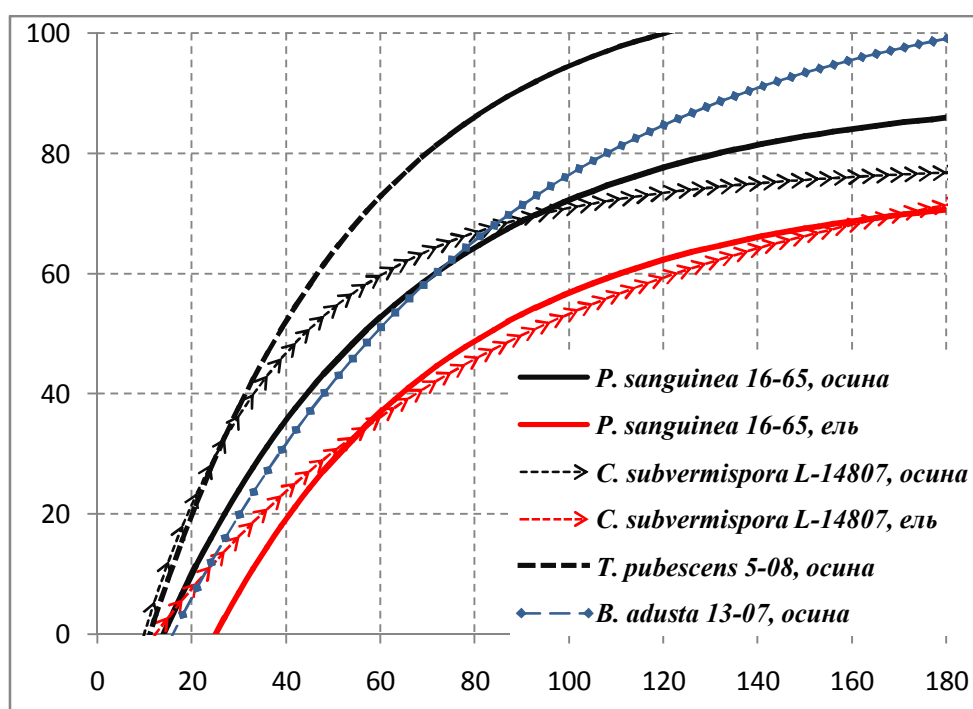


Рис. 4. Кинетика разрушения лигнина грибами коррозии и делигнификации: по оси абсцисс – время, сутки; по оси ординат – потеря массы лигнина, %.

4.3. Расчет содержания моносахаридов в гидролизатах древесины

Для расчета калибровочных уравнений определяемых веществ приготовили шесть модельных смесей с различной концентрацией арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы и глюкозы, так как предполагалось, что их содержание в образцах древесины может значительно изменяться под действием ферментного аппарата КТГ. Приведенные уравнения (табл. 4) наиболее точно описывают все экспериментальные точки и обеспечивают прохождение калибровочной кривой через 0, так как нулевому содержанию вещества в пробе соответствует площадь пика равная 0. В представленных уравнениях x является величиной,

равной процентному отношению проинтегрированных площадей пиков моносахаридов к площади внутреннего стандарта.

Для выяснения вариабельности содержания углеводов в исследуемой древесине вычисляли стандартное отклонение (S.D.) отдельного моносахарида после хроматографирования восьми разных проб, приготовленных из исходных образцов осины. Рассчитанные величины зависят от уровня содержания соответствующего компонента в пробе и значительно отличаются друг от друга. При использовании описанной методики арабиноза определяется с наименьшей вариабельностью (S.D.=0,16). Манноза и галактоза дают приблизительно одинаковые стандартные отклонения – 0,31 и 0,28 соответственно. Вариабельность при определении содержания глюкозы (S.D.=1,23) оказалась больше, чем для остальных моносахаридов, кроме ксилозы, отклонение которой существенно превышает все остальные вычисленные значения и соответствует 3,84.

Полученные результаты свидетельствуют, что описанная методика позволяет производить измерения химического состава древесины с точностью, достаточной для определения последовательности утилизации ее отдельных компонентов под действием КТГ на разных стадиях ксилолиза.

Таблица 4

Относительное время удерживания и калибровочные уравнения для моносахаридов

Наименование углевода	Время удерживания, мин	Калибровочное уравнение
Арабиноза	6,53	$y=0,267*x$
Ксилоза	6,78	$y=0,0114*x^2+0,1302*x$
Манноза	10,16	$y=0,0056*x^2+0,1572*x$
Глюкоза	10,50	$y=-0,001*x^2+0,3645*x$
Галактоза	10,77	$y=-0,1251*x^2+0,7049*x$

4.4. Разложение углеводов

Полисахаридный комплекс древесины состоит из целлюлозы и гемицеллюлоз. Гемицеллюлозы в осине представлены глюкоманнаном, глюкуроноксианом, галактуронорамногалактаном и арабианом, а в ели – галактоглюкоманнаном и арабиноглюкуроноксианом [Дудкин, 1991; Rowell, 2005]. Полисахаридный комплекс древесины при гидролизе 72 %-ной серной кислотой распадается на отдельные моносахариды. В табл. 5 представлены результаты определения инвертированных сахаров после гидролиза древесины ели и осины.

Таблица 5

Содержание моносахаридов после гидролиза
исходной древесины ели и осины, % от массы сух. образца

Порода древесины	Арабиноза	Ксилоза	Манноза	Глюкоза	Галактоза
<i>Picea abies</i>	0,9	4,7	9,7	39,3	1,7
<i>Populus tremula</i>	0,3	16,5	1,1	45,1	1,3

Определив содержание инвертированных сахаров в древесине по описанной методике, можно рассчитать их остаток (г) по формуле 3. По остатку глюкозы можно судить о том, сколько целлюлозы осталось в древесине после воздействия на нее КТГ. Остаток прочих моносахаридов позволяет оценить характер разрушения гемицеллюлоз, в состав которых они входят.

При разложении образцов осины грибом *P. sanguinea* 16-65 на 34 % содержание глюкозы в древесине увеличивается с 45 % (исходный образец) до 53 %. На фоне увеличения доли глюкозы содержание ксилозы резко снижается. При той же потере массы древесины содержание ксилозы в исследуемых образцах составило 2 %, что соответствует остатку, равному 9 % от ее первоначального содержания в исходном образце. Остаток маннозы и глюкозы в образцах осины после воздействия *P. sanguinea* 16-65 свидетельствует о том, что полисахариды, в состав которых они входят, потреблялись в меньшей степени (рис. 5 а).

В еловой древесине ксилоза потребляется *P. sanguinea* 16-65 не так избирательно, как в осиновых образцах (рис. 5 б). При разложении елового образца на 46 % остаток ксилозы был равен 21 %. Ксилоза разрушалась параллельно с маннозой. Особенно интенсивно происходило потребление арабинозы и галактозы. Глюкоза разрушалась в последнюю очередь. Максимум содержания глюкозы в образце, равный 48 %, был определен при 22 % потери массы древесины, при этом ее остаток составлял 95 % от исходного количества глюкозы в здоровой древесине. По-видимому, после этого глюкоза потреблялась более активно, уже при потере массы образца в 37 % осталось 64 % глюкозы от ее первоначального количества.

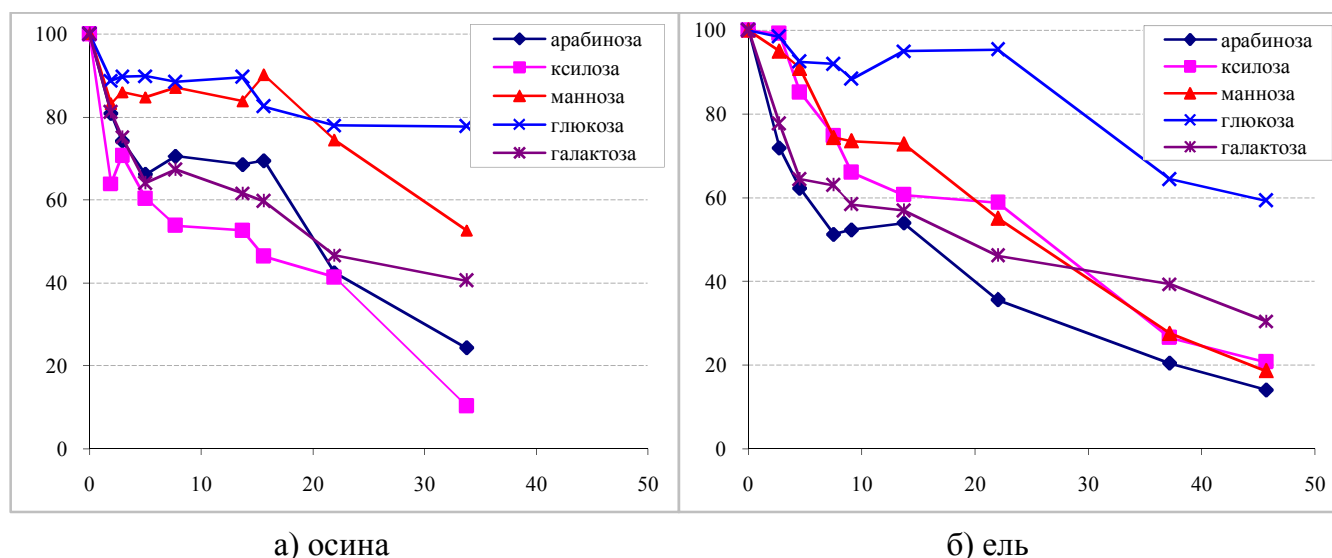


Рис. 5. Остаток углеводов в древесине после воздействия *P. sanguinea* 16-65: по оси абсцисс – потеря массы древесины, %; по оси ординат – остаток моносахаридов, %.

Потребление моносахаридов осиновой древесины грибом *C. subvermispora* L-14807 напоминает их разложение под действием *P. sanguinea* 16-65. Снижение содержания ксилозы в исследованных образцах осины происходит одновременно с увеличением доли глюкозы.

Определенный максимум содержания глюкозы равный 50 % приходится на 22 % потери массы древесины, при этом ее остаток в разрушенной древесине составляет 88 %. К этому сроку ксилозы в осине остается 46 %, и ее количество продолжает неуклонно снижаться (рис. 6 а). Разложение остальных моносахаридов происходит аналогичным образом.

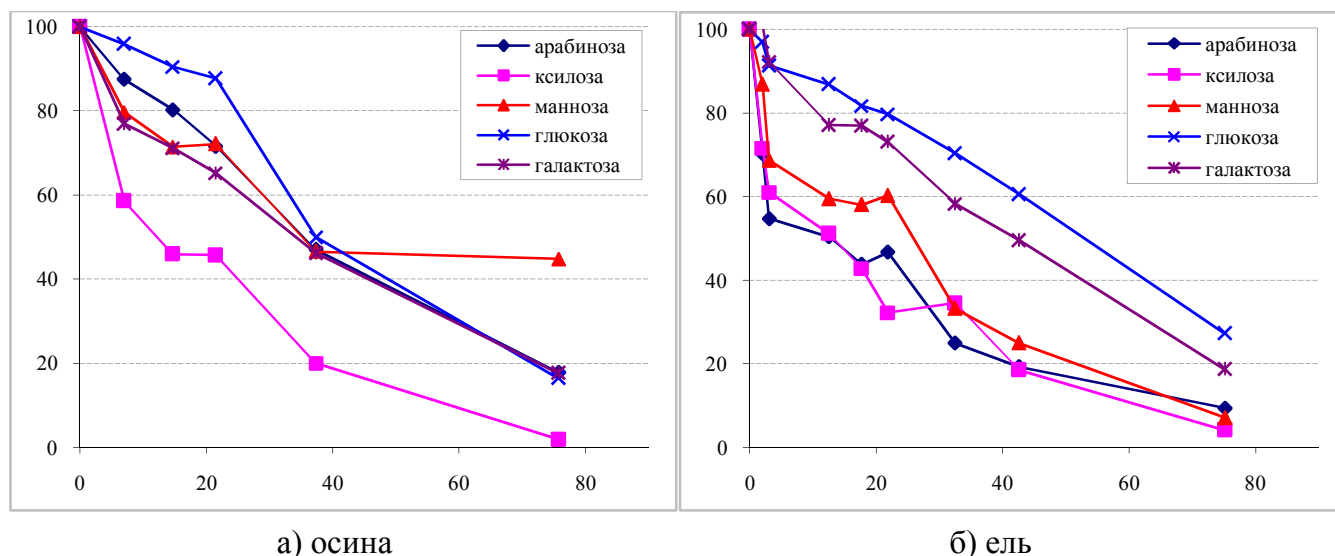
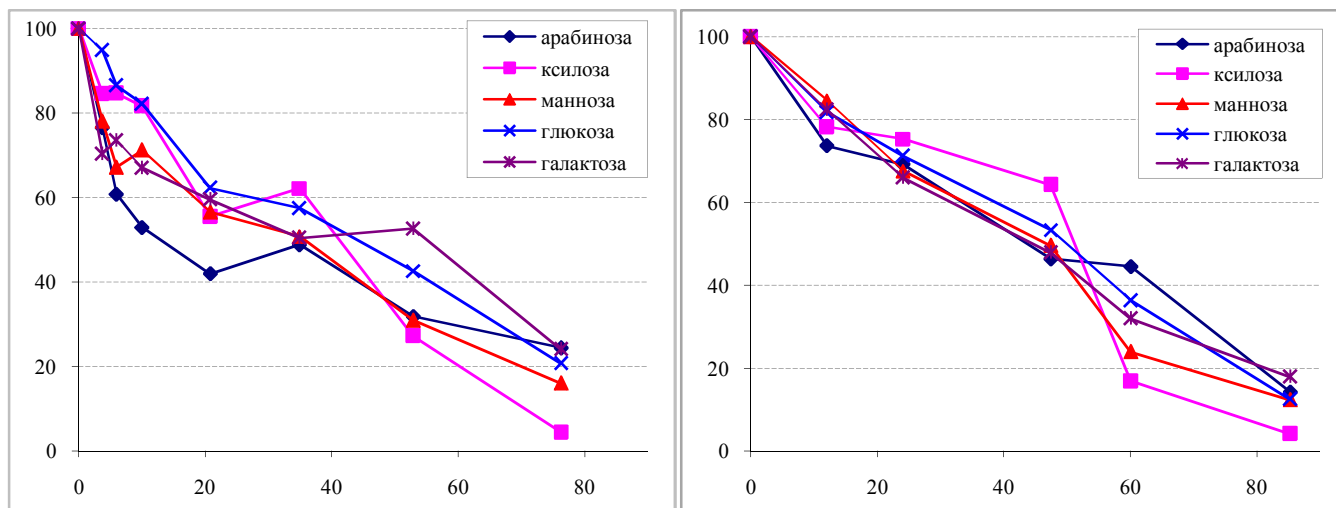


Рис. 6. Остаток углеводов в древесине после воздействия *C. subvermispora* L-14807: по оси абсцисс – потеря массы древесины, %; по оси ординат – остаток моносахаридов, %.

Разложение глюкозы в древесине ели под действием *C. subvermispora* L-14807 происходит пропорционально ее содержанию в исходном образце. При определении остатка моносахаридов в разрушенной древесине обнаруживается, что по сравнению с другими углеводами, глюкоза расходуется менее интенсивно (Рис. 6 б). Однако такой характер потребления глюкозы в еловой древесине приближает *C. subvermispora* L-14807 к симультанному разрушению. При потере массы древесины в 22 % остаток глюкозы в ней соответствует 80 %. Ксилоза, арабиноза и манноза потреблялись *C. subvermispora* L-14807 одновременно, и интенсивность потребления была выше, по сравнению с остальными моносахаридами.

Разложение ксилозы, маннозы, глюкозы, галактозы в древесине осины под действием *T. pubescens* 5-08 происходит практически одинаково. Несколько большей интенсивностью отличалось разрушение арабинозы. При разложении осины под действием *B. adusta* 13-07 происходит одновременное разложение исследуемых моносахаридов на всех стадиях микогенного ксилолиза (Рис. 7). Глюкоза разлагается грибами, вызывающими коррозию, одновременно с остальными компонентами. Ее содержание в разрушаемой древесине оставалось практически постоянным с тенденцией к снижению на продвинутых стадиях ксилолиза.

Анализ углеводной части образцов на разных стадиях микогенного ксилолиза показал, что характер ее изменения обусловлен видовой принадлежностью гриба и породой древесины. Неодинаковое разложение углеводов осины и ели одним и тем же грибом-делигнификатором, связано с разным полисахаридным составом хвойных и лиственных пород.



T. pubescens 5-08

B. adusta 13-07

Рис. 7. Остаток углеводов в осиновой древесине после воздействия грибами, вызывающими коррозию: по оси абсцисс – потеря массы древесины, %; по оси ординат – остаток моносахаридов, %.

Общим правилом при повреждении осиновой древесины делигнификаторами является преимущественное потребление гетерополимера глюкуроноксилана. В древесине ели разрушение гемицеллюлоз арабиноглюкуроноксилана и галактоглюкоманнана под действием этих грибов происходило практически одновременно. При разрушении обеих пород делигнификаторами наименее затрагиваемым углеводом оказалась глюкоза, что подтверждает сведения о том, что целлюлоза потребляется этими грибами не так интенсивно, как остальные углеводы. На начальных этапах разложения ($\approx 20\text{--}30\%$ потери массы древесины) наблюдалось увеличение содержания глюкозы. Это увеличение объясняется относительным снижением доли других компонентов древесины, при одновременном низком потреблении целлюлозы.

Все исследуемые моносахариды регистрировались вплоть до самых последних стадий разложения. Даже минорные соединения, такие как арабиноза и галактоза, никогда полностью грибами не разлагались и всегда присутствовали в ограниченном количестве до самых последних стадий разрушения субстрата.

4.5. Разложение древесины *Picea obovata* под действием *Phellopilus nigrolimitatus*

P. nigrolimitatus, формируя в древесине ели (*P. obovata*) коррозионную (пеструю, или ямчатую) гниль, образует локальные участки, в которых происходит полная делигнификация (I), наряду с зонами, где визуально никаких изменений не происходит (II). Для анализа был использован образец с базисной плотностью 171 кг/м^3 ($\delta=53\%$). Делигнификация зоны I в исследованном образце происходит практически полностью и сопровождается значительным снижением содержания ксилозы до $0,7\%$ (табл. 6). Арабиноза и галактоза присутствуют в зоне I на фоновом уровне, недостаточном для достоверного определения их содержания.

Содержание лигнина в зоне II остается таким же, как и в здоровой древесине. По характеру разрушения глюкозы и лигнина можно предположить, что ксилолиз участка II проходит по симультанному типу разложения. По-видимому, это временное явление, так как развитие зоны делигнификации I происходит именно за счет зоны II. На участках с симультанным разложением так же идет усиленное потребление ксилозы.

Таблица 6

Содержание лигнина и инвертированных сахаров в двух зонах, формируемых грибом *P. nigrolimitatus* в еловой древесине, %

Зона	Арабиноза	Ксилоза	Манноза	Глюкоза	Галактоза	Лигнин
I	следы	0,7	2,2	79,9	следы	2,5
II	0,6	1,9	6,2	36,8	1,7	28,1

Глава 5. Распределение *P. sanguinea* на древесном детрите разных пород и размеров

Распределение древесного детрита, пораженного *P. sanguinea*, по породам и диаметру показано в табл. 7. Гриб зарегистрирован на всех наиболее распространенных в условиях изучения породах, предпочитая малый размер древесных остатков (<4 см). Крупные остатки, на которых отмечен грибок, представляли собой валеж, пень или сухостой (тогда грибок находился в приземной комлевой части сухостоя), ограничиваясь, как правило, заболонной частью поперечного сечения. В еловом детрите он также распространялся и на спелую древесину.

Таким образом, *P. sanguinea* представляет собой типичный подстилочный грибок, разрушающий в основном мелкие древесные остатки. Он не представляет опасности распространения на живые деревья. Экологические условия его развития в природной среде, безразличие к древесной породе делают его привлекательным для использования в биотехнологических целях.

Таблица 7

Количество находок *P. sanguinea* на древесном детрите разных пород и размеров, шт

Порода	Диаметр, см							Всего
	<4,0	4,1-8,0	8,1-12	12,1-16	16,1-20	22	26	
<i>Picea abies</i>	18	5	4	1	1	-	1	30
<i>Pinus silvestris</i>	21	2	2	-	2	-	-	27
<i>Betula spp.</i>	20	2	-	2	-	-	-	24
<i>Populus tremula</i>	12	1	-	-	-	-	1	14
<i>Alnus incana</i>	4	-	-	-	-	1	-	5
<i>Salix caprea</i>	1	-	-	-	-	-	-	1
Всего	76	10	6	3	3	1	2	101

ВЫВОДЫ

1) Удельные скорости разложения древесины *Picea abies* и *Populus tremula* грибом *Ceriporiopsis subvermispора* L-14807 (*Picea abies* $k_2=4,1 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹; *Populus tremula* $k_2=6,2 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹) в 2–4 раза выше, чем *Phanerochaete sanguinea* 16-65 (*Picea abies* $k_2=2,0 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹; *Populus tremula* $k_2=1,4 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹).

2) Разложение древесины грибами, вызывающими коррозию, происходит существенно быстрее, чем грибами-делигнификаторами. Удельные скорости разложения древесины *Populus tremula* грибами *Bjerkandera adusta* 13-07 ($k_2=14,2 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹) и *Trametes pubescens* 5-08 ($k_2=22,3 \times 10^{-3}$ сутки⁻¹) в 2,5–3 раза выше, чем *Ceriporiopsis subvermispора* L-14807, и в 10–15 раз выше, чем *Phanerochaete sanguinea* 16-65.

3) Для грибов, вызывающих делигнификацию, зависимость потери массы лигнина от потери массы древесины описывается экспоненциальной функцией:

$$\delta_L = \delta_{L_{\max}} * (1 - \exp(-i * \delta))$$

На основании значений констант разложения лигнина (i) можно судить, что *Phanerochaete sanguinea* 16-65 (*Picea abies* $i=9,7 \times 10^{-2}$; *Populus tremula* $i=13,5 \times 10^{-2}$) разрушает лигнин более избирательно, чем *Ceriporiopsis subvermispора* L-14807 (*Picea abies* $i=2,5 \times 10^{-2}$; *Populus tremula* $i=6,2 \times 10^{-2}$).

4) Потребление лигнина грибами, вызывающими коррозию, происходит прямо пропорционально потере массы древесины. Зависимость потери массы лигнина от потери массы древесины описывается линейной функцией:

$$\delta_L = j * (\delta - \delta_0)$$

Разложение лигнина по отношению к общей потере массы грибами *Bjerkandera adusta* 13-07 (*Populus tremula* $j=1,15$) и *Trametes pubescens* 5-08 (*Populus tremula* $j=1,16$), вызывающими коррозию, осуществлялось почти одинаково.

5) На примере лигнина показана возможность расчета скорости разложения отдельного компонента в процессе микогенного ксилолиза. Предложены модели для описания разложения лигнина грибами, вызывающими делигнификацию (1) и коррозию (2), в зависимости от времени:

$$\delta_L = \delta_{L_{\max}} * (1 - \exp(-i * \delta_{\max} * (1 - \exp(-k * (t - t_0))))), \quad (1)$$

$$\delta_L = j * (\delta_{\max} * (1 - \exp(-k * (t - t_0))) - \delta_0) \quad (2)$$

Наиболее быстрым разложением лигнина характеризуются грибы, вызывающие коррозию, что обусловлено общей высокой скоростью разложения ими всех компонентов древесины. Скорость разложения лигнина в древесине *Populus tremula* и *Picea abies* изученными грибами-делигнификаторами одинакова и существенно меньше по сравнению с грибами, вызывающими коррозию. Более низкая скорость разложения лигнина, присущая

Phanerochaete sanguinea 16-65, компенсируется высокой избирательностью его разложения этим штаммом.

6) Делигнификация древесины *Populus tremula* грибами *Phanerochaete sanguinea* 16-65 и *Ceriporiopsis subvermispora* L-14807 сопровождается интенсивным потреблением ксилозы, входящей в состав глюкуроноксилозанового гемицеллюлозного комплекса. В древесине *Picea abies* потребление ксилозы происходит одновременно с потреблением других моносахаридов, входящих в состав гемицеллюлоз. Предположительно ксилоза используется в качестве основного косубстрата в процессе делигнификации *Populus tremula*, однако не представляет исключительной пищевой ценности при делигнификации *Picea abies*, где ее содержание значительно ниже. Грибы *Bjerkandera adusta* 13-07 и *Trametes pubescens* 5-08, вызывающие коррозию, характеризуются одинаковой способностью к разрушению гемицеллюлоз, целлюлозы и лигнина.

7) Отсутствие субстратной специализации, а также высокая скорость и избирательность разложения лигнина в сравнении с другими изученными грибами позволяет рекомендовать штамм *Phanerochaete sanguinea* 16-65 для использования в процессах получения древесной массы, обогащенной целлюлозой, и других технологических процессах, где требуется преимущественное разложение лигнина с сохранением целлюлозы.

Список публикаций по теме диссертации

1. Казарцев И.А., Соловьев В.А. Изменения химического состава древесины под действием лигнинаразрушающего гриба *Phanerochaete sanguinea* // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии – СПб.: СПбГЛТА, 2009. – Вып. 188. – С. 253-259
2. Казарцев И.А., Рощин В.И. Определение содержания моносахаридов в древесине на разных стадиях микогенного ксилолиза при помощи хроматомасс-спектрометрии // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии – СПб.: СПбГЛТА, 2009. – Вып. 189. – С. 188-197
3. Казарцев И.А. Разрушение лигнина некоторыми ксилотрофными грибами // Мат. всероссийск. научн. конф. студ. и аспирантов. "Молодые исследователи – регионам", 2009 г. - Вологда, 2009 – С. 243-244
4. Kazartsev I.A., Soloviev V.A. Wood decomposition effect caused by two lignin-degrading fungi *Phanerochaete sanguinea* and *Ceriporiopsis subvermispora* // Plenary meeting and conference: Forest as a renewable source of vital values for changing world, 15-21 June 2009. – SPb., 2009 – С. 61-62
5. Кузнецов А.А., Шорохова Е.В., Капица Е.А., Казарцев И.А. Микогенный ксилолиз крупных древесных остатков в лесах средней подзоны тайги // Сборник материалов Международ. научн.-практ. конф. "Биологическое разнообразие, озеленение, лесопользование", 11-12 ноября 2008 г. – СПб.: СПбГЛТА, 2009. – С. 108-112

6. Казарцев И.А., Соловьев В.А., Рощин В.И. Воздействие лигнинразрушающих грибов на биомассу осины // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всероссийской конференции. 21-23 апреля 2009 г.: в 2 кн./под ред. Н.Г.Базарновой, В.И.Маркина. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2009. – Кн.1. – С. 32 - 33.
7. Казарцев И.А., Кузнецов А.А. Приживутся ли делигнификаторы в ЦБП? //ЛесПромИнформ. – 2010. – № 2(68) – С. 160-163