

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ОБЪЕКТОВ АРИДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

©2011 О.Б. Сопрунова

ФГУП «Астраханский государственный технический университет», г. Астрахань

Поступила 15.07.2011

Рассмотрены преимущества использования аборигенных микроорганизмов и консорциумов для биоремедиации водных и почвенных экосистем аридной зоны.

Ключевые слова: биоремедиация, нефтяное загрязнение, циано-бактериальные сообщества, аборигенные микроорганизмы.

Общеизвестно, что все бактерии и эукариотические одноклеточные организмы в природных условиях существуют в виде популяций, в лабораторных условиях – целостных структурированных колоний. Как популяции микроорганизмов, так и микробные колонии обладают функциональной специализацией, которая способствует более эффективному использованию питательных субстратов; повышенной устойчивости к изменяющимся условиям окружающей среды и антибактериальным агентам. Окружающая среда для микроорганизмов представляет собой не только совокупность определенных физико-химических условий среды обитания, но и наличие других микроорганизмов. Все это предопределяет сложность взаимоотношений микроорганизмов на различных уровнях существования и позволяет им выживать в самых неблагоприятных условиях благодаря способности адаптироваться к любым условиям окружающей среды, что является основной стратегией их поведения. При адаптации к среде обитания микроорганизмы используют механизмы на различных уровнях организации систем: надорганизменном (структурированность сообществ, фенотипическая гетерогенность и целостность культуры в процессе развития, симбиотические взаимодействия и др.), клеточном (наличие уникальных структур: гигантских вакуолей для запасания NO_3^- , капсул, слизистых образований и чехлов), экофизиологическом (способность к адгезии, колонизации, продукции физиологически активных веществ, синтезу антибиотиков, сидерофоров и др.) и молекулярно-биохимическом [11, 25].

Микроорганизмы обладают способностью формировать популяционные структуры, обладающие следующими экологическими свойствами [10, 12]: гетерогенностью и функциональной дифференциацией микробных клеток; наличием внутри популяции (колонии микроорганизмов) в той или иной мере обособленных микроколоний, т.е. формированием субпопуляций (микроколоний); целостностью свойств популяций как общими для всей системы структуры (межклеточный матрикс), так и

коллективным поведением клеток, включая программируемую клеточную гибель ради выживания всей системы; способностью популяции оценивать плотность микробных клеток и влиять на характеристики окружающей среды при достаточной плотности клеток в ней.

При лимитации используемых субстратов бактерии проявляют реакции хемотаксиса, демонстрируя такое радикальное изменение в поведении, как переход от свободного плавания клеток в жидкостях к роению на поверхности, тянущей подвижности, скольжению и др. [6, 22]. Так, лимит питательных веществ при выращивании *Micrococcus luteus* на бедной среде проявляется на ранних стадиях культуры, и приводит к тому, что для роста в лаг-фазе происходит криптический рост, что указывает на существование особой стратегии развития бактериальной популяции в неблагоприятных условиях, когда «альтруистическая» гибель клеток может являться фактором, обеспечивающим развитие популяции в целом [2].

Бактериальные клетки могут взаимодействовать друг с другом путем образования межклеточных контактов. Примером таких образований являются колонии, колониеподобные сообщества, биопленки, бактериальные маты и т.д. В таких сообществах существует клеточная гетерогенность [27]. В бактериальных колониях *E.coli* и *Staphylococcus aureus* одни клетки принимают участие в образовании наружной мембраны, защищающей колонию [26], другие активно делятся, некоторые лизируются [10]. При образовании биопленок у *Pseudomonas aeruginosa* часть клеток лизируется, что необходимо для нормального развития микроколоний в биопленке [28]. Бактериальные маты являются примером межвидового клеточного взаимодействия, когда продукты одного вида являются субстратом для другого [11].

Приспособительным механизмом биохимической адаптации бактерий является синтез экзополисахаридов. Так, подобное явление проявляют аэротолерантные спирохеты при контакте клеток с внешней средой для снижения концентрации O_2 [6], автотрофные цианобактерии *Nostoc muscorum* при воздействии ионов Cd [1].

Неблагоприятные условия окружающей среды способны вызывать у многих бактерий переход в

Сопрунова Ольга Борисовна, докт. биол. наук, проф., e-mail: soprunova@mail.ru

покоящееся состояние. В течение достаточно продолжительного времени покоящееся состояние у бактерий связывали со спорами, цистами и другими специализированными структурами. К настоящему времени способность переходить в покоящееся состояние установлена и у ряда неспорулирующих бактерий [8, 20, 21, 23, 24]. Это состояние, характеризующееся снижением метаболической активности и полным отсутствием деления, является обратимым, и такие клетки сохраняют свою жизнеспособность в течение длительного времени и могут продолжить рост при наступлении благоприятных условий.

Многие бактерии, в том числе псевдомонады, в процессе роста могут расщепляться (диссоциировать) на варианты, которые различаются по физиолого-биохимическим и морфологическим признакам: морфологии колоний, устойчивости к внешним воздействиям, способности к синтезу практически важных веществ, интенсивности разрушения ксенобиотиков и углеводов, требовательности к содержанию питательных веществ в среде [9, 18].

В ходе многолетних исследований природных и техногенных объектов (нефтезагрязненные почвенные территории в районе буровых скважин Калмыкии, очистные сооружения газо-химического комплекса (ГХК), резервуар-накопитель замазученных сточных вод), расположенных в зоне аридного климата, выявлены циано-бактериальные сообщества, включающие представителей нескольких трофических уровней (фотосинтетиков, бактерий, простейших), участвующих в трансформации загрязняющих веществ [3, 5, 13-15, 17].

Установлено [13-15, 17], что циано-бактериальное сообщество на основе *Phormidium tenuissimum*, *Synechocystis salina*, *Synechococcus elongates*, выделенное из очистных сооружений ГХК, при внесении (как в живом виде, так и в виде высушенной биомассы) в нефтешламы и нефтезагрязненные почвы способствует формированию сбалансированного биоценоза бактерий, грибов и водорослей, обладающего более высоким биодegradационным потенциалом, повышая эффективность очистки от нефтяных углеводов, в том числе полиароматических.

При исследовании резервуара-накопителя сточных вод, образующихся при обезвоживании мазута, методом накопительных культур выделено циано-бактериальное сообщество, эдификаторами которого являются цианобактерии: нитчатые *Oscillatoria amphibian*, *Phormidium dimorphum* и одноклеточные *Synechocystis salina*. Установлено [3], что использование циано-бактериального сообщества для очистки сточных вод способствует деградации нефтяных углеводов, в том числе ПАУ, снижению оптической плотности и содержания растворенного органического вещества, повышая степень насыщения воды кислородом. В целом использование данного сообщества способствует детоксикации сточных вод, что создает предпосылки для разра-

ботки рекультивации подобного рода сооружений с использованием циано-бактериальных сообществ.

Кроме этого, при изучении нефтезагрязненных почв получены накопительные культуры углеводородокисляющих бактерий, которые показали высокую активность в отношении деградации нефтяных углеводов в почвах [16]. Установлено, что внесение накопительной микробной культуры в комплексе с минеральными удобрениями способствует очистке почвы от алифатических (99,8 %) и полиароматических (99,9 %) углеводов в течение года. Изолированные из накопительных микробных культур в чистые культуры бактериальные штаммы, изучаемые в последующем, показали способность диссоциировать (расщепляться), различаясь по колониально-морфологическим и физиолого-биохимическим свойствам [18].

Явление внутривидовой изменчивости микроорганизмов способствует возникновению в микробиологических биотехнологиях особых ситуаций [9], т.к. любая культура способных расщепляться бактерий фактически является сообществом спонтанно возникающих диссоциантов. При этом активность диссоциантов, их физиологические особенности, влияющие на продуцирование биологически активных веществ, различны [4]. Под действием меняющихся условий внешней среды, которые являются селектирующими факторами, изменяется соотношение диссоциантов в популяции бактерий, что обуславливает снижение эффективности применения бактерий в биоремедиации, т.к. в популяции появляются неактивные варианты, различающиеся не только по морфологическим признакам, но и по требовательности к источникам питания, устойчивости к внешним воздействиям и интенсивности деградации ксенобиотиков, в том числе и нефтяных углеводов [4].

Изучение углеводородокисляющей и эмульгирующей активности чистых бактериальных культур позволило подобрать оптимальные питательные среды для получения наиболее устойчивых диссоциантов для проявления максимальной активности в отношении нефтяных углеводов: S-типы *B. cereus*, *Ps. aeruginosa* и *St. xylosus*, R-тип *B. firmus* [7]. При этом выявлено, что наибольшей активностью среди изученных микроорганизмов в отношении нефтяных углеводов, проявляя окислительные и эмульгирующие свойства, обладают штаммы, имеющие меньшее количество диссоциативных переходов.

Таким образом, на основании многолетних исследований природных и антропогенных экосистем, расположенных в зоне аридного климата, установлено, что наиболее перспективными для разработки способов биоремедиации нефтезагрязненных объектов являются сообщества аборигенных микроорганизмов, т.к. они наиболее устойчивы к действию как биотических, так и абиотических факторов среды благодаря способности адаптироваться на различных уровнях организации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бреховских А.А.* Защитные механизмы автотрофной цианобактерии от токсического воздействия ионов кадмия: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2006. 26 с.
2. *Волошин С.А., Капрельянец А.С.* Межклеточные взаимодействия в культуре *Micrococcus luteus*, растущей на неполноценной питательной среде // Стратегия взаимодействия микроорганизмов с окружающей средой. Саратов, 2005. С. 104-111.
3. *Гальперина А.Р., Сопрунова О.Б.* Перспективные направления эффективной очистки токсичных сточных вод // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2009. Т. 114. Вып. 3. С.183-186.
4. *Гарейшина М.З., Кузнецова Т.А., Остробоков С.И.* Влияние закачки аэрированных растворов минеральных солей на микрофлору воды призабойных зон нагнетательных скважин нефтеместорождений // Микробиология. 1991. Т. 60. № 4. С. 741-745.
5. *Горленко М.В., Сопрунова О.Б., Шадрина О.И., Терехов А.С.* Комплексная оценка эффективности ремедиации нефтезагрязненных почв интродуцированным цианобактериальным сообществом // Вестник Московского ун-та. Сер. почвоведение. 2006. № 1. С. 38-44.
6. *Дубинина Г.А.* Механизмы адаптации бесцветных серобактерий к среде обитания // Труды Ин-та микробиологии им. С.Н. Виноградского. Вып. XII: Юбилейный сб. к 70-летию ин-та. М.: Наука, 2004. С. 126-147.
7. *Клюянова М.А.* Разработка основы биопрепарата для деградации нефти при загрязнении природных сред: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2009. 24 с.
8. *Лойко Н.Г., Соина В.С., Сорокин Д.Ю. и др.* Образование покоящихся форм у граматрицательных хемолитоавтотрофных бактерий *Tioalkalivibrio versutus* и *Tioalkalimicrobium aerophilum* // Микробиология. 2003. Т. 72. № 3. С. 328-337.
9. *Милюк Е.С., Егоров Н.С.* Гетерогенность популяций бактерий и процесс диссоциации (корине- и нокардиоподобных бактерий). М.: Изд. МГУ, 1991. 144 с.
10. *Олескин А.В.* Надорганизменный уровень взаимодействия в микробных популяциях // Микробиология. 1993. Т. 62. № 3. С. 389-403.
11. *Олескин А.В., Самуилов В.Д.* Технологическая биоэнергетика. М.: Изд. МГУ, 1994. 136 с.
12. *Олескин А.В.* Экологически важные свойства популяций микроорганизмов // Соросовский образовательный журн. 2001. Т. 7. № 8. С. 7-12.
13. *Сопрунова О.Б., Шадрина О.И.* Оценка активности микробиоценозов в условиях экспериментального изучения биodeградации нефтяных углеводов // Экологические системы и приборы. 2000. № 5. С. 25-27.
14. *Сопрунова О.Б., Шадрина О.И.* О перспективах использования циано-бактериальных сообществ для деструкции нефтяных углеводов // Экологические системы и приборы. 2003. № 5. С. 29-31.
15. *Сопрунова О.Б.* Консорциумы цианобактерий и микроорганизмов – перспективные агенты очистки нефтезагрязненных почв // Вестник РУДН. Серия Экология и безопасность жизнедеятельности. 2005. №2 (12). С. 92-96.
16. *Сопрунова О.Б., Сангаджиева О.С., Клюянова М.А.* Экспериментальное изучение биологической очистки нефтезагрязненных почв накопительной микробной культурой // Экологические системы и приборы. 2005. № 11. С. 12-15.
17. *Сопрунова О.Б.* Использование цианобактериального комплекса для ремедиации нефтезагрязненных сред // Биотехнология. 2006. № 5. С. 52-56.
18. *Сопрунова О.Б., Клюянова М.А.* Экологофизиологические особенности бактериальных штаммов, изолированных из нефтезагрязненных экосистем Нижнего Поволжья // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2008. № 5. С. 64-68.
19. *Сопрунова О.Б., Гальперина А.Р.* Особенности аборигенной микрофлоры замасоченных сточных вод // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2008. № 5. С. 33-36.
20. *Сузина Н.Е., Мулюкин А.Л., Козлова А.Н. и др.* Тонкое строение покоящихся клеток некоторых неспорообразующих бактерий // Микробиология. 2004. Т. 23. № 4. С. 516-529.
21. *Karpelians A.S., Kell D.B.* Dormancy in stationary-phase cultures *Micrococcus luteus*: flow cytometric analysis of starvation and resuscitation // Appl. Environ. Microbiol. 1993. V. 59. P. 3187-3196.
22. *Henrichsen J.* Bacterial surface translocation: a survey and a classification // Bacteriol. Rev. 1972. V. 36. P. 478-503.
23. *Shleeva M.O., Bagramyan K., Telkov M.V. et al.* Formation and resuscitation of "non-curtulable" cells of *Rhodococcus rhodochrous* and *Mycobacterium tuberculosis* in prolonged stationary phase // Microbiology. 2002. V. 148. P. 1581-1591.
24. *Shleeva M.O., Mukamolova G.V., Young M. et al.* Formation non-curtulable" cells of *Mycobacterium smegmatis* in stationary phase in responsy to growth under suboptimal conditions and their Rpf-resusotation // Microbiology. 2004. V. 150. P. 1687-1697.
25. *Steenhoudt O., Vanderleyde J.* *Azospirillum* a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects // FEMS Microbiol. Rev. V. 24. Iss. 4. P. 487-506.
26. *Tetz V.V., Rybalchenko O.V., Savkova G.A.* Ultrastructure of the surface film of bacterial colonies // J. Gen. Microbiol. 1993. V. 139. P. 855-858.
27. *Tetz V.V., Rybalchenko O.V.* Ultrastructure of colony-like communities of bacteria // APMIS. 1997. V. 105. P. 99-107.
28. *Webb S.J., Thompson L.S., James S et al.* Cell death in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development // J. Bacteriol. 2003. V. 185. P. 4585-4592.

PERSPECTIVE TECHNOLOGIES BIOREMEDIATION OF THE PETROPOLLUTED OBJECTS OF ARID TERRITORIES

©2011 O.B. Soprunova

Astrakhan State Technical University, Astrakhan

In article advantages use of native microorganisms and consortia for bioremediation water and soil ecosystems of an arid zone are surveyed.

Key words: bioremediation, oil pollution, cyanobacterial communities, native microorganisms.

Soprunova Olga Borisovna, Doctor of Biology, Professor, e-mail: soprunova@mail.ru