

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАСТЕНИЯМИ, В УСКОРЕНИИ ПРОЦЕССОВ РАЗЛОЖЕНИЯ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ

М.С. Третьякова<sup>1</sup>, Л.А. Беловежец<sup>2</sup>, Л.Г. Соколова<sup>1</sup>, С.Ю. Зорина<sup>1</sup>, Ю.А. Маркова<sup>1</sup>, Л.Е. Макарова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *marina-tretjakova@yandex.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *lyu-sya@yandex.ru*

**Аннотация.** Исследована перспективность применения эндо- и ризосферных микроорганизмов для ускорения процессов разложения углеводородов нефти и биоремедиации нефтезагрязненной почвы. Показано, что исследованные штаммы способны к эффективной деструкции нефти в жидкой минеральной среде и почве.

**Ключевые слова:** нефть, эндо- и ризосферные бактерии-нефтедеструкторы, биоремедиация

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-1151-1154

Негативным последствием добычи, переработки, транспортировки нефтяных углеводородов является загрязнение окружающей среды. Нефть и нефтепродукты, попадая в почву в результате разливов, приводят к снижению плодородия почвы, угнетению растительного покрова, изменению биологического разнообразия природных ландшафтов [Андреева и др., 2007].

Для ликвидации последствий подобного рода загрязнений в последнее время используют аборигенные углеводородоокисляющие микроорганизмы, которые, благодаря наличию ферментативных систем, окисляют вредные вещества до безопасных соединений, таких как CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O [Fuentes et al., 2014; Xenia et al., 2016; Тарабукина и др., 2017]. Известно, что перспективными нефтедеструкторами являются микроорганизмы, ассоциированные с растениями. Есть данные, указывающие, что у эндосферных и ризосферных микроорганизмов встречаемость плазмид, которые ответственны за деградацию нефти выше, чем у почвенных микроорганизмов [Siliciano et al., 2001; Oliveira et al., 2011]. Поэтому целесообразно при биоремедиации нефтезагрязненной территории использовать эндофитные и ризосферные микроорганизмы как перспективные нефтедеструкторы [Ryan et al., 2006; Муратова, 2013; Чеботарь и др., 2015]. Целью настоящей работы стало выделение и оценка перспективности бактерий, ассоциированных с растениями нефтезагрязненной территории в процессе биоремедиации почвы, загрязненной нефтью.

В результате исследований из эндо- и ризосферы растений, которые произрастали на почве, подвергшейся нефтяному загрязнению в 1998 г. (п. Тыреть, Иркутская обл.), выделены и идентифицированы 6 штаммов микроорганизмов-нефтедеструкторов. Проверена их нефтеразлагающая активность в жидкой минеральной среде и почве. В жидкой минеральной среде при добавлении различных концентраций нефти микроорганизмы утилизировали около 30% нефти за 2 месяца культивирования при температуре 26 °С (табл. 1).

Для ускорения деструкции нефти микроорганизмами были составлены ассоциации микроорганизмов. Исследована их деструктивная активность при различных температурах: 4, 10, 26 °С (табл. 2). Показано, что при использовании

ассоциаций микроорганизмов при температуре 26 °С убыль нефти достоверно отличалась в случае применения монокультур. При температуре 4 °С разложение нефти практически не происходило. При температуре 10 °С отмечалось разрушение нефтяной пленки, образование мелких капель нефти. Степень деструкции нефти составляла 15% за 2 месяца культивирования при исходной концентрации нефти в среде 10 % (табл. 2).

**Таблица 1.**

**Убыль нефти (в %) при разных её концентрациях в жидкой минеральной среде в результате деградации штаммами 90, 102, 108, 109, 112,114 в течение 60 сут, при температуре 26 °С с вычетом абиотической убыли**

Степень биодegradации нефти, %						
Концентрация нефти, % (v/v)	Штамм					
	<i>Pseudomonas</i> (90)	<i>Pseudomonas</i> (102)	<i>Rhodococcus</i> (108)	<i>Pseudomonas</i> (109)	<i>Acinetobacter</i> (112)	<i>Acinetobacter</i> (114)
5	26±0.9	22±2.2	30±1.5	24±1.9	35±0.8	32±1
10	15±1.7	13±1.2	11±0.8	12±1.4	28±2	23±1.7
15	12±0.9	10±1.3	10±1.1	10±0.8	24±1.4	22±1.4
20	9±1.3	7±0.8	7±0.4	8±1.2	16±1.5	18±1.5
50	5±0.7	4±0.8	5±1	6±1.2	8±1.4	<b>10±1</b>

**Таблица 2.**

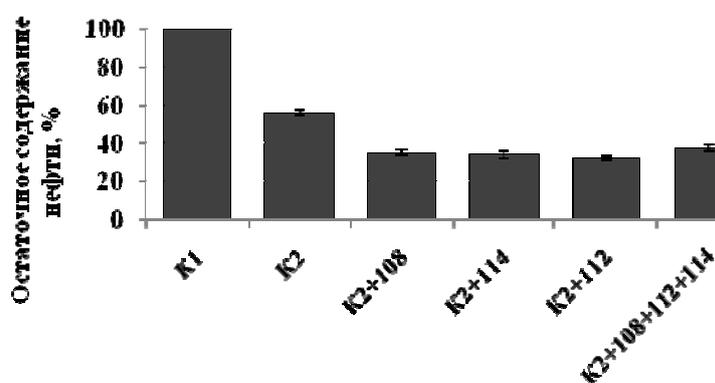
**Разложение нефти ассоциациями микроорганизмов через 60 сут культивирования при различной температуре, концентрация нефти в среде – 10%**

Температура культивирования	Ассоциации штаммов	Степень деструкции нефти, %
4 °С	108+114	2±1.5
	108+112	1,5±2.0
	112+114	3,4±0.5
	108+112+114	1,3±2.1
10 °С	108+114	5±0.2
	108+112	7±0.5
	112+114	15±0.2
	108+112+114	4,4±0.8
26 °С	108+114	26±1.5*
	108+112	30±3.5*
	112+114	32±1.0*
	108+112+114	25±3.8*

**Примечание:** звездочкой показаны достоверные различия показателя от монокультуры при уровне значимости  $p \leq 0,05$

Эффективность выделенных микроорганизмов для целей биоремедиации загрязненной нефтью почвы определяли на основе показателей ее биологической активности и убыли нефти. Использовали следующие параметры: фитотоксичность почвы, изменение ферментативной и дыхательной активности почвы и общей численности почвенной микрофлоры [Плешакова и др., 2011; Сулейманов и др., 2012; Кириенко и др., 2015]. В результате исследования показано, что утилизация нефти за 60 сут эксперимента в варианте без бактерий составила 45%, в варианте с бактериями – до

70% от исходного загрязнения (рисунок). В вариантах с микроорганизмами увеличивалась активность почвенных оксидоредуктаз (до 8 раз), снижалось токсическое действие углеводородов нефти на растения (до 1,5 раз), усиливалась интенсивность почвенного дыхания (до 74% относительно варианта без бактерий). Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемые штаммы микроорганизмов являются эффективными нефтеструкторами.



**Рисунок.** Остаточное содержание нефти в почве за 60 сут эксперимента: K1 – исходное содержание нефти, K2 – внесение нефти в почву без бактерий.

Таким образом, исследованы перспективные штаммы нефтеструкторы, выделенные из эндо- и ризосферы растений. Данные штаммы принадлежат к роду *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и могут быть использованы в целях биоремедиации.

#### Литература

Андреева И.С., Емельянова Е.К., Олькин С.Е., Резникова И.К. и др. Утилизация углеводородов психротолерантными штаммами-деструкторами // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 43, № 2. – С. 223–228.

Кириенко О.А., Имранова Е.Л. Влияние загрязнения почвы нефтепродуктами на состав микробного сообщества // Вестник ТОГУ. – 2015. – № 3 (38). – С. 79–86.

Муратова А.Ю. Растительно-микробные ассоциации в условиях углеводородного загрязнения: Автореф. дис. ... доктора биол. наук: 03.00.07, 03.01.06. – Саратов, 2013. – 47 с.

Плешакова Е.В. Муратова А.Ю., Турковская О.В. Изменение биологической активности загрязненной углеводородами почвы // Поволжский экологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 482–488.

Сулейманов Р.Р., Шорина Т.С. Влияние нефтяного загрязнения на динамику биохимических процессов чернозема обыкновенного // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 240–243.

Тарабукина Н.П. Саввинов Д.Д., Неустроев М.М., Степанова А.М., Неустроев М.П., Сазонов Н.Н., Парникова С.И. Экологическая оценка и биоремедиация нефтезагрязненных мерзлотных почв Якутии. – Новосибирск: Изд. АНС «СибАК», 2017. – 136 с.

Чеботарь В.К. Мальфанова Н.В., Щербаков А.В., Ахтемова Г.А., Борисов А.Ю., Люгтенберг Б., Тихонович И.А. Эндофитные бактерии в микробных препаратах, улучшающих развитие растений (Обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2015. – Т. 51, № 3. – С. 283–289.

Fuentes S., Mendez V., Aguila P., Seeger M. Bioremediation of petroleum hydrocarbons: catabolic genes, microbial communities, and applications // Applied microbiology and biotechnology. – 2014. – V. 98, No. 11. – P. 4781–4794.

Oliveira V., Newton C., Gomes M., Almeida A. Hydrocarbon contamination and plant species determine the phylogenetic and functional diversity of endophytic degrading bacteria // Molecular Ecology. – 2014. – V. 23, No. 6. – P. 1392–1404.

Ryan R., Germaine K., Franks A., Ryan D., Dowling D. Bacterial endophytes: recent developments and applications // FEMS microbiology letters. – 2008. – V. 278, No. 1. – P. 1–9.

Siciliano S.D., Fortin N., Mihoc A., Wisse G., Labelle S., Beaumier D., Schwab P. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination // Applied and environmental microbiology. – 2001. – V. 67, No. 6. – P. 2469–2475.

Xenia M., Refugio R. Microorganisms metabolism during bioremediation of oil contaminated soils // J. of Bioremediation & Biodegradation. – 2016. – V. 7, № 340. – P. 1–6.

#### **ASPECTS OF APPLICATION OF BACTERIA ASSOCIATED WITH PLANTS IN ACCELERATION OF OIL HYDROCARBONS DEVELOPMENT PROCESSES**

M.S. Tretyakova<sup>1</sup>, L.A. Belovezhets<sup>2</sup>, L.G. Sokolova<sup>1</sup>, S.Y. Zorina<sup>1</sup>, Yu. A. Markova<sup>1</sup>, L.E. Makarova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, [marina-tretjakova@yandex.ru](mailto:marina-tretjakova@yandex.ru)

<sup>2</sup>A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, [lyu-sya@yandex.ru](mailto:lyu-sya@yandex.ru)

**Abstract.** The prospects of the use of endo- and rhizosphere microorganisms to accelerate the decomposition of petroleum hydrocarbons and bioremediation of contaminated soil are investigated. It is shown that the studied strains are capable of effective destruction of oil in a liquid mineral medium and soil.

**Keywords:** *oil, endo- and rhizosphere bacteria-oil destructors, bioremediation*