

## УСТОЙЧИВОСТЬ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ К УГЛЕВОДОРОДАМ НЕФТИ И ДРУГИМ ТОКСИЧНЫМ ВЕЩЕСТВАМ\*

Оценена способность бактериального штамма, выделенного из хранившегося длительное время в лаборатории гексадекана, развиваться в нефтепродуктах. Выявлено, что в некоторых нефтепродуктах изучаемый изолят сохранял жизнеспособность до 10,5 месяцев.

*Ключевые слова:* углеводородоокисляющие бактерии, деструкция нефтепродуктов, выживаемость, токсикорезистентность.

O.F. Vyatchina  
O.P. Gorbachevskaya

## RESISTANCE OF OIL-DEGRADING MICROORGANISMS TO HYDROCARBONS OF OIL AND OTHER TOXIC COMPOUNDS

The authorsestimate ability of bacterial strain isolated from hexadecane after its long-term storage in laboratory to growth on oil products. It is found out that in some oil products the studied isolate remained viable up to 10,5 months.

*Keywords:* oil-degrading microorganisms, destruction of oil products, survival ability, resistance to toxicants.

Нефть и нефтепродукты являются приоритетными загрязнителями для Байкальского региона. Применение алканотрофных микроорганизмов является одним из наиболее экологичных дешевых и эффективных приемов освобождения от нефтезагрязнений [1]. В предыдущих работах нами были описаны некоторые свойства выделенных штаммов микроорганизмов длительное время сохранявшихся в нефтепродуктах. Важной характеристикой для микроорганизмов используемых при деструкции нефтезагрязнений является их способность выживать и расти при высоких концентрациях нефти. Практический интерес представляют штаммы микроорганизмов, способные усваивать широкий спектр углеводородов и обладающие высокой токсикорезистентностью.

В связи с этим целью данной работы явилась оценка длительности сохранения жизнеспособности выделенных штаммов в нефтепродуктах и в некоторых других токсичных загрязнителях.

В качестве объектов исследования использовали бактериальный штамм 1-05, выделенный из хранившегося длительное время в лаборатории гексадекана и культуру *Pseudomonas aeruginosa*, входящую в состав нефтеразрушающего препарата «Деворойл» (препарат разработан в институте Микробиологии РАН и Научнопроизводственном предприятии «Биотехинвест») [3]. Препарат разработан в институте Микробиологии РАН и Научно-производственном предприятии «Биотехинвест».

\* Работа выполнена при поддержке грантов Роснауки ФЦП (ГК 02.740.11.0018 от 15.06.2009 г. и ГК 02.740.11.0335 от 07.07.2009 г.).

Для изучения выживаемости нефтеокисляющих штаммов в нефти, гексадекане, базовом масле, реактивном топливе, дизельном топливе (зимний сорт и летний сорта) в колбы с 50 мл стерильного нефтепродукта вносили по 1 мл суспензии односуточных культур. Колбы помещали в термостат (температура 30 °C). Количество жизнеспособных клеток бактерий учитывали через определенные интервалы времени вплоть до полного отмирания культур путем посева десятикратных разведений культуральной жидкости на плотную синтетическую среду с гексадеканом [2]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Excel 2000 и общепринятых методов. Рассчитывали средние арифметические величины ( $M$ ) и доверительные интервалы. Выводы сделаны при вероятности безошибочного прогноза  $P \geq 0,95$ .

Для дальнейших штамм 1-05 культивировали в течение 24 часов при различных концентрациях в среде нефтепродуктов от 1 до 50%. В суспензионной культуре при 1%-ном содержании субстрата в среде изолят проявил достаточно высокую активность по отношению к базовому маслу. Титр культуры составил  $3,34 \pm 0,14 \cdot 10^8$ , при исходном количестве бактерий в среде  $10^7$  КОЕ/мл. Увеличение концентрации базового масла приводило к снижению количества жизнеспособных клеток штамма (рис. 1).

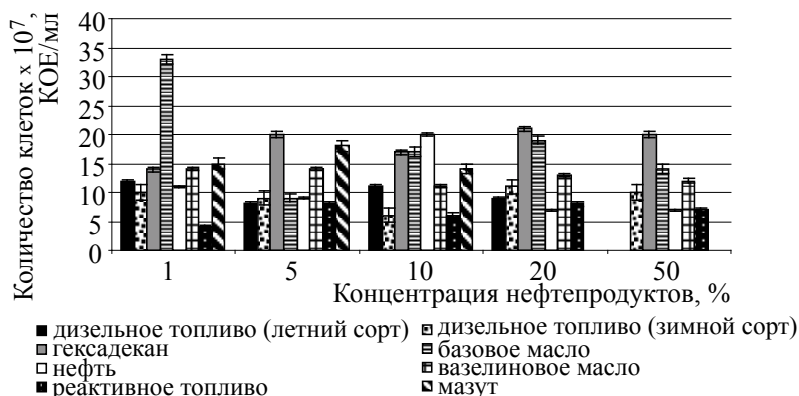


Рис. 1. Рост штамма 1-05 при различных концентрациях нефтепродуктов

В средах с добавлением 1% гексадекана, дизельного топлива (летнее и зимнее), нефти, мазута и вазелинового масла численность клеток исследуемого штамма составляла от  $1,40 \pm 0,69 \cdot 10^8$  до  $1,02 \pm 0,51 \cdot 10^8$  КОЕ/мл. Более низкий показатель роста культуры был зарегистрирован в среде с реактивным топливом —  $4,0 \pm 0,16 \cdot 10^7$  КОЕ/мл. Увеличение в среде концентрации гексадекана, дизельного топлива (летний и зимний сорта), мазута до 50% не приводило к существенному изменению титра штамма (см. рис. 1).

При оценке токсикорезистентности изолята 1-05 из гексадекана параллельно изучали выживаемость в нефтепродуктах производственного штамма *P. aeruginosa*. Наиболее быстро отмирание клеток исследуемых микроорганизмов происходило при их инкубации в дизельном (зимний сорт) и в реактивном топливе. В последнем случае жизнеспособность штамма 1-05 сохранялась в течение 14 суток, *P. aeruginosa* — в течение 28 суток. В зимнем дизельном топливе культура 1-05 выживала до 35 суток, *P. aeruginosa* — до 28 суток (рис. 2).

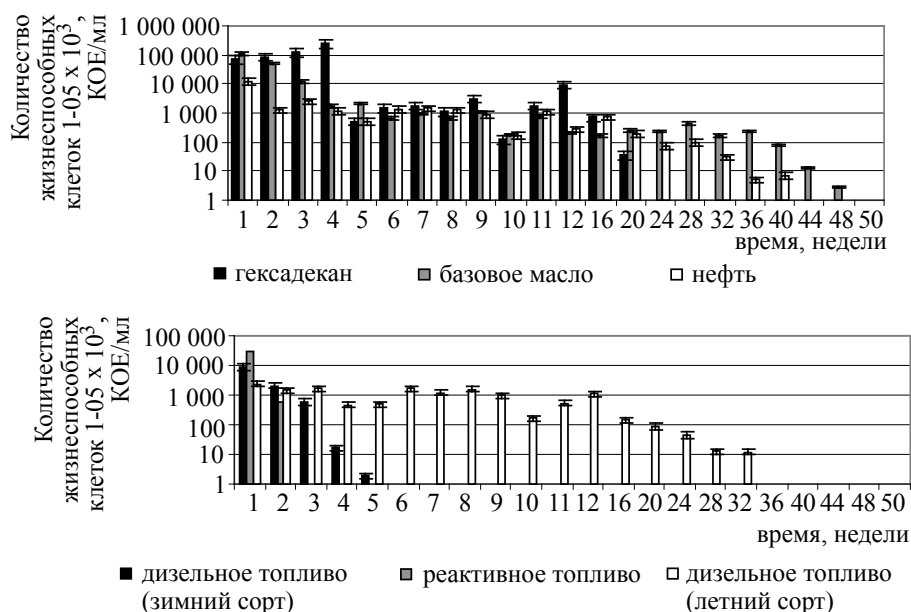
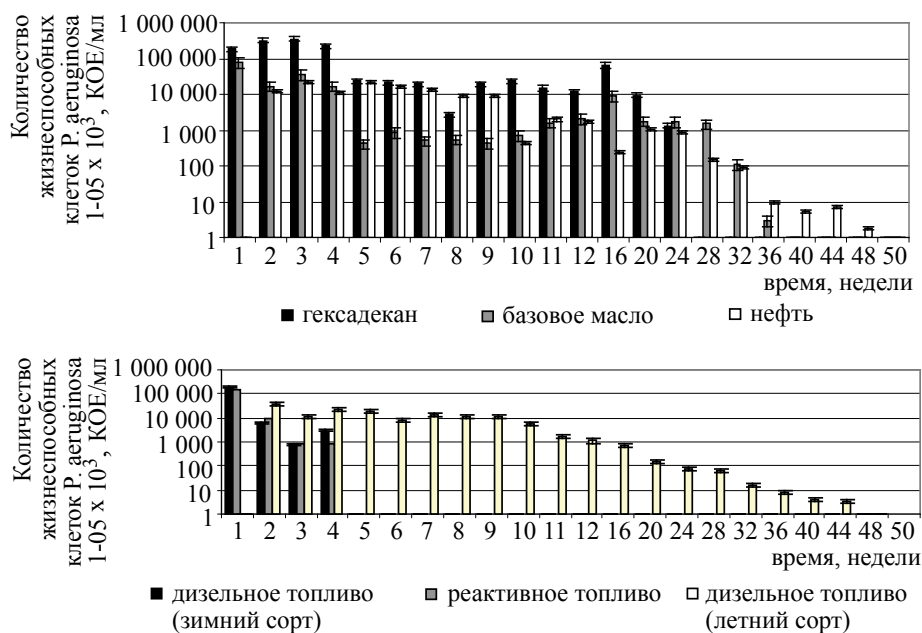


Рис. 2. Выживаемость штамма 1-05 в нефтепродуктах

Летний сорт дизельного топлива оказался более благоприятной средой для популяций обоих видов. После инкубирования штамма 1-05 в течение почти 7 месяцев его титр в этом нефтепродукте составлял  $1,2 \pm 0,20 \cdot 10^4$  КОЕ/мл. *P. aeruginosa* сохраняла жизнеспособность на протяжении 9,5 месяцев при постепенном снижении количества клеток до  $3,2 \pm 0,10 \cdot 10^3$  КОЕ/мл (рис. 3).

Рис. 3. Выживаемость штамма *Pseudomonas aeruginosa* в нефтепродуктах

Обе культуры длительно сохранялись в нефти (1-05 — более 8,5 месяцев, *P. aeruginosa* — 10,5 месяцев) и базовом масле (1-05 — 10,5 месяцев, *P. aeruginosa* — около 8 месяцев). В гексадекане время выживания популяции штамма 1-05 составило около 4 месяцев, *P. aeruginosa* — около 5 месяцев.

Подводя итог, можно заключить, что штамм микроорганизма, изолированный из длительно хранившегося цетана, способен развиваться в широком диапазоне концентраций нефтепродуктов от 1 до 50%. Кроме того, показано, что штамм 1-05 может длительно сохранять жизнеспособность в таких субстратах, как базовое масло, нефть, дизельное топливо (летний сорт), гексадекан. На основании выше сказанного, изолят из гексадекана, прежде всего, можно рассматривать в качестве культуры, перспективной для использования при создании биопрепаратов, предназначенных для борьбы при ремедиации сред, загрязненных высокими концентрациями различных нефтепродуктов\*.

### Список использованной литературы

1. Жуков Д.В. Механизмы деградации углеводородов нефти микроорганизмами / Д.В. Жуков, В.П. Мурыгина, С.В. Калюжный // Успехи современной биологии. — 2006. — Т. 126, № 3. — С. 285–296.
2. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук; под ред. А.И. Нетрусова. — М.: Академия, 2005. — 604 с.
3. Сидоров Д.Г. Полевой эксперимент по очистке почв от нефтяного загрязнения с использованием углеводородокисляющих микроорганизмов / Д.Г. Сидоров, И.А. Борзенков, Р.Р. Ибатулин [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. — 1997. — Т. 33, № 5. — С. 497–502.

### Bibliography (transliterated)

1. Zhukov D.V. Mekhanizmy degradatsii uglevodorodov nefti mikroorganizmami / D.V. Zhukov, V.P. Murygina, S.V. Kalyuzhnyi // Uspekhi sovremennoi biologii. — 2006. — T. 126, № 3. — S. 285–296.
2. Netrusov A.I. Praktikum po mikrobiologii / A.I. Netrusov, M.A. Egorova, L.M. Zakharchuk; pod red. A.I. Netrusova. — M.: Akademiya, 2005. — 604 s.
3. Sidorov D.G. Polevoi eksperiment po ochistke pochv ot neftyanogo zagryazneniya s ispol'zovaniem uglevodorodokislyayushchikh mikroorganizmov / D.G. Sidorov, I.A. Borzenkov, R.R. Ibatulin [i dr.] // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. — 1997. — T. 33, № 5. — S. 497–502.

### Информация об авторах

Вятчина Ольга Федоровна — кандидат биологических наук, доцент, кафедра микробиологии, Иркутский государственный университет, 664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1.

Горбачевская Ольга Петровна — аспирант, Восточно-Сибирская государственная академия образования, 664011, г. Иркутск, ул. Нижняя набережная, 6.

### Authors

Vyatchina Olga Fyodorovna — PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Chair of Microbiology, Irkutsk State University, Irkutsk.

Gorbachevskaya Olga Petrovna — post-graduate student, East Siberian State Academy of Education, Irkutsk.

\* Авторы признательны И.А. Борзенкову за предоставление культуры *Pseudomonas aeruginosa*.