

УДК 579.22  
ББК 20.18

О.Ф. Вятчина  
кандидат биологических наук, доцент  
Иркутского государственного университета,  
г. Иркутск

О.П. Горбачевская  
аспирантка Восточно-Сибирской  
государственной академии образования  
г. Иркутск

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

Аннотация. Оценивали 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. Vyatcina**  
Cand. biol.sci., senior lecturer of  
Irkutsk state university,  
Irkutsk

**O.P. Gorbachevskaya**  
post-graduate student of East Siberian state  
Academy of education, Irkutsk  
e-mail: [stomd@mail.ru](mailto:stomd@mail.ru)

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

Annotation. The ability of bacterial strain isolated from hexadecane which be kept long time in laboratory to growth on oil products was estimated. It is revealed that in some oil products isolate studied kept vitality until 10,5 month

Key words: 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 приёмов 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 углеводов 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» (3). Препарат разработан в институте Микробиологии РАН и Научно-производственном предприятии «Биотехинвест».

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 (Нетрусов, 2005). 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).

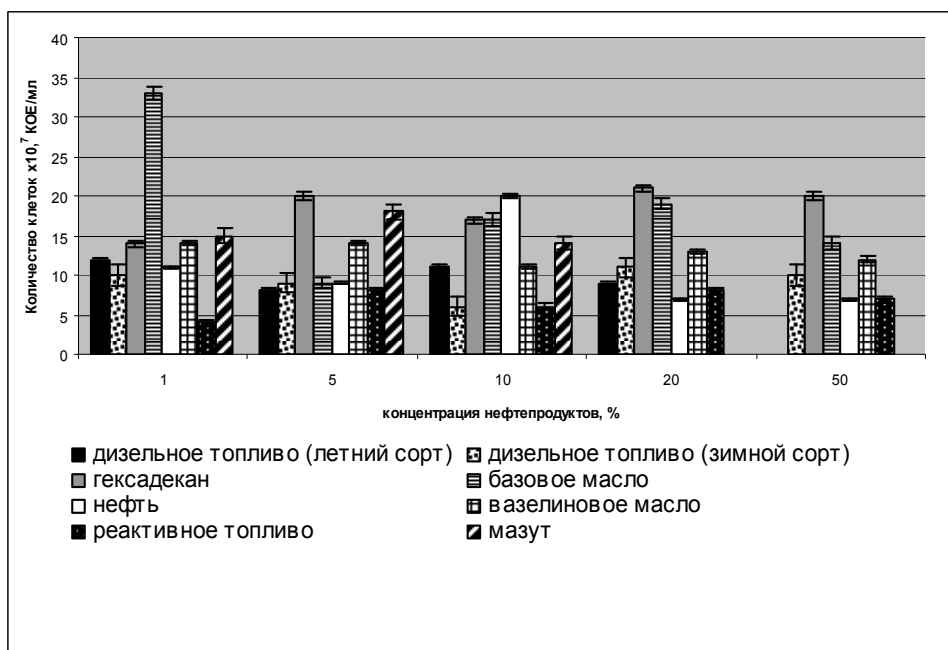


Рис. 1. Рост штамма 1-05 при различных концентрациях нефтепродуктов

В средах с добавлением 1 % гексадекана, дизельного топлива (летнего и зимнего), 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 (рис. 1).

При оценке токсикорезистентности изолята 1-05 из гексадекана параллельно изучали выживаемость в нефтепродуктах производственного штамма *P. aeruginosa*. Наиболее быстрое 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).

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).

Обе культуры длительно сохранялись в нефти (1-05 – более 8,5 месяцев, *P. aeruginosa* – 10,5 месяцев) и базовом масле (1-05 – 10,5 меся-

цев, *P. aeruginosa* – около 8 месяцев). В гексадекане время выживания популяции штамма 1-05 составило около 4 месяцев, *P. aeruginosa* – около 5 месяцев.

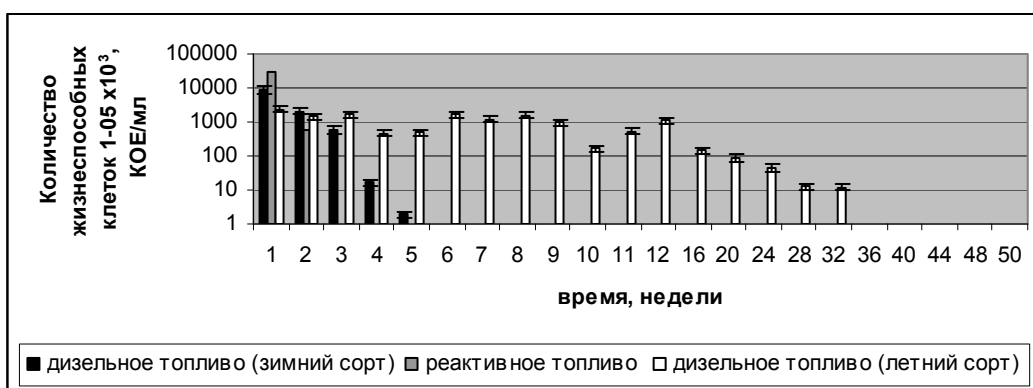
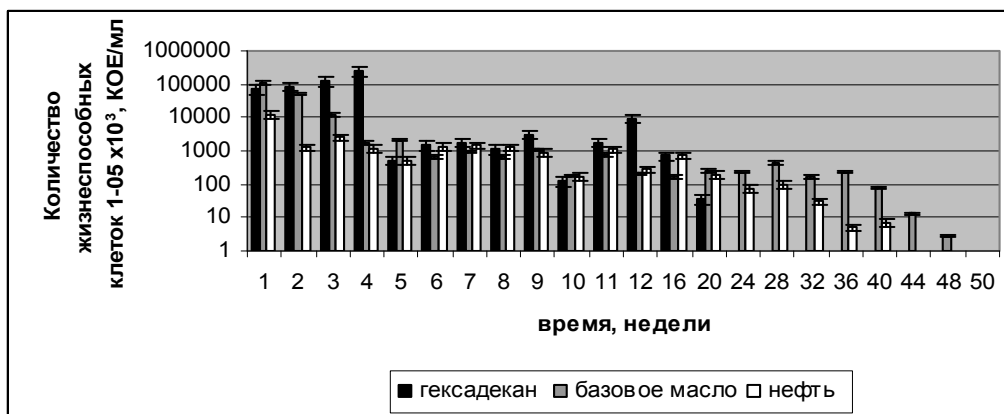
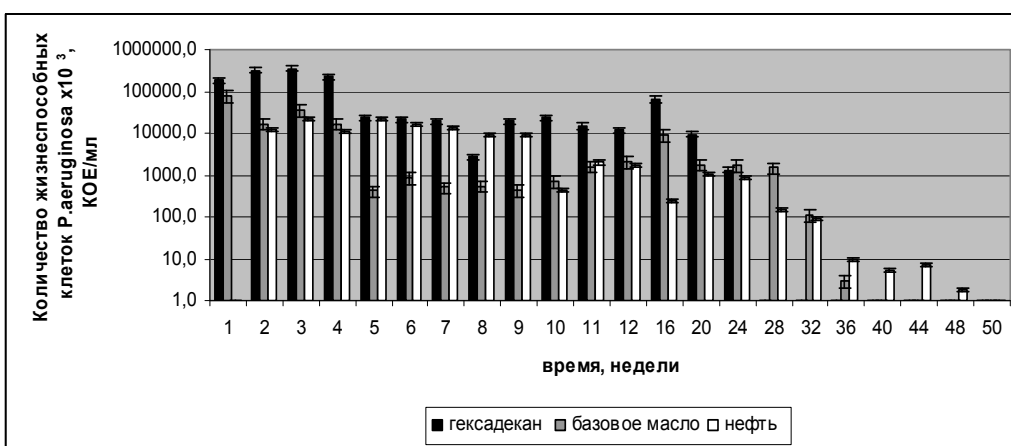


Рис. 2. Выживаемость штамма 1-05 в нефтепродуктах



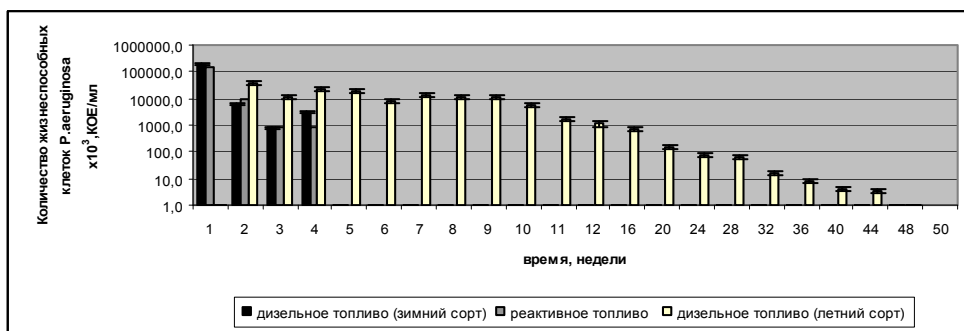


Рис. 3. Выживаемость штамма *Pseudomonas aeruginosa* в нефтепродуктах

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.

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

Работа выполнена при поддержке совместного российско-китайского гранта РФФИ № 06-04-39003 ГФЕНА.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жуков Д.В., Мурыгина В.П., Калюжный С.В. Механизмы деградации углеводородов нефти микроорганизмами // Успехи современной биологии. 2006. Т.126. №3. С.285-296.
2. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии // Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 604 с.
3. Сидоров Д.Г., Борзенков И.А., Ибатулин Р.Р. и др. Полевой эксперимент по очистке почв от нефтяного загрязнения с использованием углеводородокисляющих микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 1997. – Т.33. – №5. – С. 497-502 Препарат разработан в институте Микробиологии РАН и Научно-производственном предприятии «Биотехинвест».