

## О РОЛИ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ В САМООЧИЩЕНИИ ЗАГРЯЗНЕННОГО НЕФТЬЮ САМУР-АПШЕРОНСКОГО ШЕЛЬФА КАСПИЙСКОГО МОРЯ\*

*Аннотация:* В результате проведенных исследований из воды и грунта Самур-Апшеронского шельфа Каспия были выделены бактерии, относящиеся к родам: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter* и *Pseudomonas*. Изучение биохимических свойств выделенных бактерий показало их активное участие в разложении углеводов и круговороте азота. Была установлена роль выделенных бактерий в деструкции углеводородов нефти. Значительное повышение активности нефтеокисляющих бактерий наблюдалось при добавлении в минеральную среду нитрата натрия и фосфата калия, при этом окислялось до 77,1% нефти. Наибольшую активность проявлял штамм *Pseudomonas* sp. 4.

*Ключевые слова:* бактерия, нефтеокисляющие, деструкция, денитрификация, круговорот азота, минерализация.

Роль нефтеокисляющих бактерий в очищении морской среды от загрязнения углеводородными соединениями общеизвестна. Основная роль в очищении морской среды от загрязнений углеводородными соединениями, в частности нефтью и нефтепродуктами, принадлежит нефтеокисляющим бактериям [1, 4, 6]. Широкое распространение нефтеокисляющих бактерий в воде и грунте, их количество, систематика и биохимические свойства дают возможность судить о высоком их самоочищающем потенциале различных морских вод и донных отложений. Исследования в этом направлении развиваются и для Каспия в связи с его загрязнением нефтяными отходами различного характера.

Материалом для настоящей работы послужили 54 штамма нефтеокисляющих бактерий, выделенных из морской воды и донных осадков наиболее загрязненных участков Апшеронского полуострова и относительно чистой акватории Самурского шельфа. Выделенные штаммы были идентифицированы общепринятыми методами [7, 8] и отнесены к 10 родам, большая часть которых относилась к родам *Bacillus* (33,3 %) и *Micrococcus* (29,6 %), а меньшая – к родам *Acinetobacter* (9,2 %) и *Pseudomonas* (7,4 %). Штаммы, отнесенные к роду *Flavobacterium*, *Aeromonas* и *Vibrio*, встречались реже. По количеству штаммов сравнительно преобладает род *Bacillus*.

С целью изучения биохимических свойств выделенных штаммов нефтеокисляющих бактерий были поставлены эксперименты с добавлением в пептонную воду различных углеводов: глюкоза, фруктоза, галактоза, арабиноза, ксилоза, лактоза, сахароза, мальтоза, маннит, глицерин, сорбит.

Проведенные эксперименты показали, что все испытанные штаммы способны использовать указанные углеводы. При этом следует отметить, что в процессе изменения пептонной воды с различными углеводами среда подкисляется или подщелачивается [4].

Подкисление пептонной воды вызывали большинство исследованных бактериальных штаммов, использующих мальтозу (81,4%), глюкозу и арабинозу (77,7%). Значительно меньший процент штаммов использовали сахарозу (74,0%) сорбит (70,3%), лактозу (61,1%) и глицерин (74,0%). В основном подкисление вызывали культуры, выделенные из Самурского шельфа. В процессе трансформации углеводов с образованием щелочи более доступной была лактоза (27%), ксилоза (20,3%), сорбит (18,5%) и галактоза (11%). Процесс подкисления был слабо выражен среди штаммов, полученных из прибрежья

\* © Алекперова И.А.

Апшеронского полуострова, 7,4% этих штаммов в процессе трансформации углеводов подщелачивали среду полностью, что объясняется опресняющим влиянием рек и сточных вод [4].

Несомненный интерес представляют данные, характеризующие денитрифицирующую и азотфиксирующую способности выделенных штаммов нефтеокисляющих бактерий. Больше половины этих штаммов использовали нитраты, восстанавливая их до молекулярного азота. Наиболее активная денитрифицирующая способность была выражена у штаммов, выделенных из воды и грунта Самурского шельфа. Количество денитрифицирующих штаммов, выделенных из воды и грунта этого участка, составило – 30 (55,5%), с побережья Апшеронского полуострова -11 (20,3%). Способность морских бактерий восстанавливать нитраты и развиваться на минеральных средах, содержащих азот, возможно, является результатом адаптации их к биотопам со специфическими условиями [2]. 57,4% штаммов, выделенных с Самур-Апшеронского шельфа, развивались на среде Эшби, не содержащей азот [3]. Из 35 штаммов 21 штамм с Самурского шельфа и из 19-ти штаммов 10 штаммов с Апшеронского побережья Каспия обладали азотфиксирующей способностью. Эта функция штаммов в исследуемой акватории была распространена равномерно. Все штаммы, выделенные из грунта, обладали азотфиксирующей способностью.

Также была изучена способность выделенных штаммов усваивать сырую нефть. Для проведения этих опытов использовали нефть из скважин различных месторождений. В таблице представлены результаты проведенных исследований по деградации нефти бактериями.

Таблица

## Рост нефтеокисляющих бактерий на нефтях из различных месторождений

№	Род бактерий	Нефть из месторождений		
		Сиязань	Сураханы	Бинагади
1.	<i>Bacillus</i>	12	9	5
2.	<i>Micrococcus</i>	7	6	3
3.	<i>Acinetobacter</i>	5	5	3
4.	<i>Pseudomonas</i>	4	3	-
5.	<i>Mycobacterium</i>	3	3	3
6.	<i>Aeromonas</i>	2	2	2
7.	<i>Alcaligenes</i>	1	1	-
8.	<i>Vibrio</i>	2	2	1
9.	<i>Arthrobacter</i>	1	1	-
10.	<i>Flavobacterium</i>	1	-	-
Всего		70,3 %	59,2 %	31,4 %

Установлено, что большая часть штаммов (70,3%) проявила способность усваивать нефть Сиязаньского месторождения, а 59,2% - нефть Сураханского месторождения. На нефти Бинагадинского месторождения росло меньшее число штаммов (31,4 %), что объясняется большим содержанием ароматической фракции в составе этой нефти [9].

В окислении нефти наибольшую активность проявили штаммы родов *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Mycobacterium*. Малоактивными были штаммы *Aeromonas* и *Vibrio*.

Также в наших экспериментах было установлено, что в морской среде биodeградация углеводородов зависит от температуры, аэрации среды и наличия в среде биогенных элементов, являющихся лимитирующими факторами, что подтверждается мнениями и

других авторов [5, 6, 10]. В связи с важной ролью биогенных веществ в процессе деградации углеводородов было изучено влияние нитратов и фосфатов на активность нефтеокисляющих бактерий.

Эксперименты по изучению роли биогенных веществ в деструкции нефти были поставлены в двух вариантах. В первом варианте в минеральную среду Ворошиловой-Диановой [1] добавлялась Бинагадинская сырая нефть и суспензия штаммов нефтеокисляющих бактерий (*Bacillus* sp. 48, *Micrococcus* sp. 32, *Pseudomonas* sp. 4, *Acinetobacter* sp. 17, *Mycobacterium* sp. 18), выделенных из воды и грунта шельфа Каспийского моря. Во втором варианте добавлялись  $\text{NaNO}_3$  и  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  в количестве 2,5 г/л. Инкубация проводилась в течение месяца при температуре 27-28°C. Установлено, что оптимальная концентрация сырой нефти в среде для нефтеокисляющих бактерий равна 1,840 г на 500 мл среды. Параллельно выяснено количество окисленной нефти в результате физико-химических процессов, что составило лишь 0,08-0,09 г.

Нефть в первом варианте окислилась до 37,0-53,1%. Во втором варианте при добавлении в минеральную среду нитрата натрия и фосфата кали окислилось до 48,6-77,1% нефти. Наиболее активным оказался штамм *Pseudomonas* sp. 4. Деградация нефти этим штаммом составила 1,340 г или 77,1%.

Необходимо отметить, что полной минерализации сырой нефти в опытах не наблюдалось. Основной причиной этого являлось накопление в среде продуктов метаболизма жизнедеятельности бактерий и тяжелых нефтяных фракций, полученных при расщеплении нефти.

Изучение биохимических свойств наиболее активных нефтеокисляющих бактерий, выделенных из морской воды и грунта Самур-Апшеронского шельфа, показало, что они активно участвуют в разложении различных углеводов и принимают участие в круговороте азота. Нефтеокисляющие бактерии могут быть активизированы наличием в среде соединений азота и фосфора. Таким образом, проведенные опыты показали, что испытанная нефть оказалась пригодной в качестве единственного источника углерода для выделенной группы микроорганизмов.

Полученные материалы свидетельствуют о том, что данная группа микроорганизмов, растущая на нефти, широко распространена в поверхностных водах прибрежных зон Самур-Апшеронского шельфа Каспия и активно участвует в самоочищении морской среды от нефти и нефтепродуктов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ворошилова А.А., Дианова Е.В. Окисляющие нефть бактерии-показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях // Микробиология, 1952. Т. XXI, вып. 4. С. 408-415.
2. Кузнецов С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая активность. Л., 1970. 440 с.
3. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М., Наука, 1989. 286 с.
4. Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Кучеренко М.И., Тархова Э.П. Самоочищение в прибрежной акватории Черного моря, К.: «Наук. думка», 1975. 143 с.
5. Миронов О.Г. Биологические проблемы нефтяного загрязнения морей // Гидробиол. журн., 2000. Т. 36, № 1. С. 82-96.
6. Миронов О.Г. Бактериальная трансформация нефтяных углеводородов в прибрежной зоне моря // Морской экологический журнал, 2002. Т. 1, №1. С. 56-66.
7. Определитель бактерий Берджи / Под редак. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. М.: Мир, 1997. Т. I, II. 800 с.
8. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова, М.: Академия, 2005. 603 с.
9. Салманов М.А., Велиев М.Г., Алиева С.Р. К вопросу микробиологического окисления углеводородов нефти // Изв.НАН Азербайджана, 2005. № 5-6. С. 159-174.
10. Atlas R. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation // Marine Pollution Bulletin, 1995, vol 31, No 4-12, p. 178-182.

I.A. Alekberova

ABOUT A ROLE OF PETROOXIDIZING BACTERIA IN AUTOPURIFICATION OF THE SAMUR-ABSHERON SHELF OF CASPIAN SEA POLLUTED BY OIL

*Abstract:* As a result of the research conducted with the water and silt samples of the Samur-Absheron Shelf of Caspian Sea, bacterial strains corresponding to Bacillus, Micrococcus, Pseudomonas and Acinetobacter genera were selected. The study of bio-chemical features of selected bacteria was showing their activity in decomposition of carbons and circulation of nitrogen. Therefore the role of the selected bacteria in the crude oil degradation has been defined. Significant increase of the activity of oil oxidizing bacteria was observed while adding nitrate natrium and phosphate calium to the mineral medium. Crude oil was oxidizing 77,1%. The most oil oxidizing activity was observed for the strain - Pseudomonas sp. 4.

*Key words:* bacterium, oil oxidizing, destruction, nitrogen circulation, mineralization.