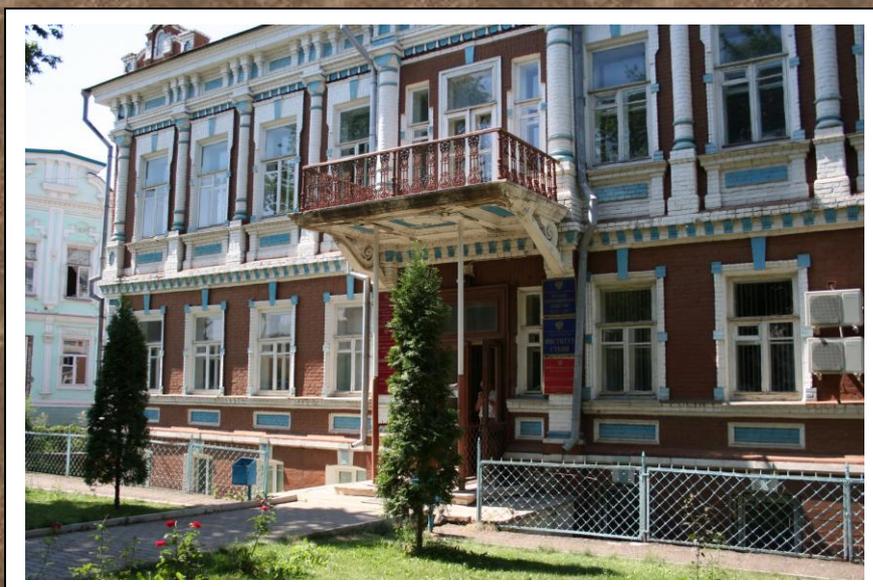


ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2012 * № 2

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© О.А. Гоголева, Н.В. Немцева, 2012

УДК 574.58

О.А. Гоголева, Н.В. Немцева

УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

Рассмотрено разнообразие углеводородоокисляющих микроорганизмов в природных экосистемах. Описан таксономический состав углеводородоокисляющего биоценоза почв и водоемов, а так же смена доминантов микробного сообщества в условиях загрязнения углеводородами. Особое внимание уделено особенностями строения и метаболической организации углеводородоокисляющих бактерий, а так же механизмам поглощения гидрофобного субстрата, отмечено, что преимущественно на данном этапе обладают микроорганизмы, содержащие в клеточной стенке миколовые кислоты *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, *Nocardia* и др.

Ключевые слова: углеводородоокисляющие микроорганизмы, углеводороды, нокардиоформные бактерии, пассивная диффузия, биоэмульгатор.

O.A. Gogoleva, N.V. Nemtseva

HYDROCARBON-OXIDIZING MICROORGANISMS IN NATURAL ECOSYSTEMS

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

A diversity of hydrocarbon-oxidizing microorganisms was analyzed in natural ecosystems. The taxonomic composition of hydrocarbon biocenosis was described in soil and water, as well as the change of dominant microbial community in pollution by hydrocarbons. Particular attention was given to the structure organization and metabolic features of hydrocarbon-oxidizing bacteria, as well as the mechanisms of absorption of the hydrophobic substrate. It was noted that the microorganisms contained mycolic acid in the cell wall such as *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, etc. have the advantage at this stage.

Keywords: hydrocarbon-oxidizing microorganisms, hydrocarbons, nocardioform bacteria, passive diffusion, bioemulsifiers.

Углеводородоокисляющие микроорганизмы широко распространены в природных экосистемах, так как способность к окислению углеводородов связана с наличием ферментов группы оксидаз [4, 22, 31]. Однако основной вклад в процесс микробиологического разрушения углеводородов вносят микроорганизмы, способные использовать нефть и нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии. Такие микроорганизмы встречаются, глав-

ным образом, среди аэробных форм, они получили название «углеводородоокисляющие микроорганизмы» [6, 18, 27]. Углеводородоокисляющие микроорганизмы являются частью гетеротрофного сообщества и присутствуют как в загрязненных, так и в незагрязненных экосистемах [1, 5, 20, 41]. От других гетеротрофных микроорганизмов они отличаются наличием комплекса ферментов, окисляющих углеводороды и способностью к поглощению гидрофобного субстрата. Загрязнение биоценоза нефтью и нефтепродуктами вносит дополнительный источник углерода в экосистему, что стимулирует развитие данной группы бактерий [28, 36], поэтому в хронически загрязненных экосистемах, численность углеводородоокисляющих бактерий всегда выше по сравнению с незагрязненными, однако количественная связь между численностью углеводородоокисляющих бактерий и количеством углеводородов в среде отсутствует [7, 18, 37].

Таксономический состав водных углеводородоокисляющих бактерий очень разнообразен, описано 28 родов бактерий и 14 родов грибов. В составе углеводородоокисляющей микрофлоры чаще всего встречаются: *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Frankia*, *Nocardiopsis*, *Brevibacterium*, *Actinomadura*, *Mycobacterium*, *Pseudonocardia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, дрожжи родов *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, мицелиальные грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Gunninghamella*, *Cladosporium* [3, 21, 26, 39].

В почвах углеводородоокисляющие микроорганизмы представлены, в основном, бактериями и грибами. Описано 22 рода бактерий, 19 родов дрожжей и 24 рода микроскопических мицелиальных грибов [23, 35, 37]. Типичными обитателями почв являются виды родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Brevibacterium*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae*, *Mycobacterium*, *Beierinckia*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Xanthomonas* и др. [9, 10, 30, 32, 34].

Известно, что состав доминирующих родов углеводородоокисляющих бактерий в биоценозах зависит от природы нефтепродукта. Так, Т.В. Коронелли [14] указывает, что для загрязненных экосистем характерно доминирование видов рода *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Arthrobacter*. В хронически загрязненных экосистемах безусловным доминантом являются *Rhodococcus*, а остальные виды занимают второстепенное положение [2, 40].

При загрязнении биотопа нефтью или нефтепродуктами происходит постепенная смена доминантов микробного сообщества. Например, по данным N.A. Sorkhoh с соавторами [43] в пробах почвы, взятых на территории Кувейта и Саудовской Аравии, в первые недели доминируют микроорганизмы вида *Rhodococcus* sp., затем *Bacillus* sp. и *Arthrobacter* sp., в конце третьей недели появляются *Pseudomonas* sp. и *Streptomyces* sp. В.В. Ильинский с соавторами [8] на примере углеводородоокисляющих бактерий Можайского водохранилища показал, что при загрязнении водоема дизельным топливом на начальных этапах деструкции доминировали виды *Acinetobacter* sp., *Arthrobacter* sp., затем их сменяли микроорганизмы вида *Rhodococcus* sp., через четыре недели к ним присоединялись псевдомонады (*Pseudomonas* sp.), которые сохраняли свое доминантное положение до конца эксперимента (через два месяца). При внесении в природную воду нефти на первой неделе доминировали виды *Rhodococcus* sp. и *Arthrobacter* sp., затем в сообществе преобладал вид *Pseudomonas* sp. К концу эксперимента в углеводородоокисляющем сообществе доминировали виды *Acinetobacter* sp. и *Arthrobacter* sp.

Способность к поглощению углеводородных субстратов тесно связана с особенностями строения и метаболической организации углеводородоокисляющих бактерий. В процессе окисления углеводородов важную роль играет прямой контакт клеток с субстратом, поэтому способность или неспособность микроорганизмов поглощать углеводороды зависит от состава и строения клеточной стенки и, в первую очередь, определяется присутствием гидрофобной клеточной поверхности [17, 13, 19, 24].

Например, способность группы нокардиоформных бактерий эмульгировать и деградировать различные углеводороды в значительной степени обусловлена особенностями строения их клеточной оболочки. Клеточная стенка бактерий данной группы в силу своей липофильности имеет высокое сродство к гидрофобным субстратам и представляет собой мощное липофильное образование, подобного которому нет у других бактерий [13, 29]. Большое значение имеет содержание в ней липидов, которые играют ведущую роль в процессе потребления углеводородов. Благодаря липидам обеспечивается прямой контакт клетки с субстратом, а также солиubilизация и поглощение углеводородов [24, 15, 33]. Кроме того, ряд авторов отмечает, что количество клеточных липидов способно увеличиваться при культивировании клеток на углеводородном суб-

страте [16, 19]. Также в клеточной стенке нокардиоформных актиномицет содержатся простые жирные кислоты, гликолипиды, корд-фактор и его аналоги, фосфолипиды, нейтральные липиды.

Помимо липидов клеточная стенка ряда нокардиоформных бактерий включает в себя миколовые кислоты [24, 25]. Миколовые кислоты являются специфическими и обязательными структурными компонентами клеточных стенок ряда бактерий, таких как *Rhodococcus* sp., *Mycobacterium* sp., *Nocardia* sp., *Pseudonocardia* sp., и др. По данным Т.В. Коронелли и Т.В. Калюжной [15], подавление синтеза миколовых кислот ведет к потере клетками способности к окислению углеводов, поскольку они непосредственно обеспечивают транспорт молекул углеводов внутрь клетки.

Наряду с пассивной диффузией углеводорода, возможно его проникновение через особые ультрамикроскопические поры. Такие каналы, заполненные электроноплотным веществом, были впервые обнаружены у дрожжей [11]. Позднее подобные образования были замечены также у видов рода *Arthrobacter*, растущих на средах, содержащих углеводороды [12]. Описано, что виды рода *Arthrobacter* наряду с формированием каналов осуществляют и гидрофобизацию клеточной стенки [14].

Выделение в среду биоэмульгатора характерно для бактерий родов *Pseudomonas* и *Acinetobacter* [13, 33]. Гидрофильная клеточная стенка этих бактерий бедна липидами и гидрофобные углеводороды не могут проникнуть через этот барьер. Выделяя во внешнюю среду биоэмульгатор, эти микроорганизмы снижают гидрофобность углеводов и способствуют их солюбилизации. Эмульгатор *Pseudomonas* представляет собой пептидогликолипид, в состав которого входят нормальные жирные кислоты, рамноза и аминокислоты. Напротив, эмульгатор *Acinetobacter* состоит из D-галактозамина, аминоуроновой кислоты и жирных кислот, присоединенных к гетерополисахаридному скелету [42].

Углеводородокисляющие бактерии имеют различные подходы к поглощению субстрата, однако преимуществом на данном этапе обладают микроорганизмы, содержащие в клеточной стенке миколовые кислоты (*Rhodococcus*, *Corynebacterium*, *Nocardia* и др.), так как они поглощают субстрат всей поверхностью клетки, и этот процесс не требует затрат.

Таким образом, в загрязненных экосистемах ведущая роль по деструкции углеводов нефтяного происхождения, принадлежит, главным образом, бактериям, в частности грампозитивной группе нокардиоформных бактерий, а также грамотрицательным бактериям родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. Это связано, в первую очередь, с физиологическими особенностями данных групп бактерий и, в частности, с их способностью к поглощению гидрофобного субстрата, так как эффективность микробиологической деструкции напрямую зависит от способности микроорганизмов поглощать гидрофобный субстрат.

(Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа» (проект № 12-П-4-1039) и гранта УрО РАН № 12-И-4-2034).

Литература.

1. Барышникова Л.М., Черемис Н.А., Головлев Е.Л. Глюкозный эффект в регуляции транспорта глюкозы клетками *Rhodococcus minimus*. Журн. микробиол. 1994, 3: 405-410.
2. Бердичевская М.В., Ившина И.Б., Нестеренко О.А., и др. Свойства и видовой состав родококков пластовых вод Пермского Прикамья, окисляющих углеводороды. Журн. микробиол. 1984, 4: 681-685.
3. Бутаев А.М., Кабыш Н.Ф. О роли углеводородокисляющих микроорганизмов в процессах самоочищения прибрежных вод дагестанского побережья Каспийского моря от нефтяного загрязнения. Вестник Дагест. науч. центра. 2002, 13: 69-77.
4. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий. М., Мир, 1982.
5. Зайцева Т.А., Рудакова Л.В., Комбарова М.М., и др. Микроорганизмы – деструкторы нефти. Научные исследования и инновации. 2010, 4: 59-63.
6. Израэль Ю.А., Цыбань А.В. Антропогенная экология океана. Л.: Гидрометеиздат, 1989.
7. Ильинский В.В. Гетеротрофный бактериопланктон: экология и роль в процессах естественного очищения среды от нефтяных загрязнений. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М. МГУ, 2000.
8. Ильинский В.В., Поршнева О.В., Комарова Т.И., и др. Углеводородокисляющие бактериоценозы незагрязненных пресных вод и их изменения под влиянием нефтяных углеводов (на примере юго-восточной части Можайского водохранилища). Микробиология. 1998, 2: 267-273.
9. Квасников Е.И., Кривицкий И.П. Некоторые закономерности распространения микроорганизмов, усваивающих углеводороды, в почвах нефтяных месторождений. Микробиология. 1968, 2: 321-325.
10. Киреева Н.А., Ямалетдинова Г.Ф. Фенолоксидазная активность нефтезагрязненных почв. Вестник Башкирского университета. 2000, 1: 48-51.
11. Козлова Т.М., Медведева Г.А., Мейсель М.Н., и др. Непосредственное обнаружение прохождения n-парафина через клеточную стенку дрожжей. Микробиология. 1973, 5: 937-939.

12. Коронелли Т.В. Липиды миксобактерий и родственных микроорганизмов. М.: Изд-во МГУ, 1984.
13. Коронелли Т.В. Поступление углеводов в клетки микроорганизмов. Усп. микробиол. 1996, 6: 579-585.
14. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде (обзор). Прикладная биохимия и микробиол. 1996, 6: 579-585.
15. Коронелли Т.В., Калюжная Т.В. Изменение ультраструктуры клеток сапротрофных микробактерий под влиянием изониазида. Микробиология. 1983, 2: 205-210.
16. Коронелли Т.В., Комарова Т.И., Поршнева О. В. Липиды R- и S-вариантов *Rhodococcus erythropolis*. Микробиология. 1995, 6: 769-771.
17. Красильников Н.А., Цыбань А.В., Коронелли Т.В. Усвоение нормальных алканов и сырой нефти морскими бактериями. Океанология. 1973, 5: 877-891.
18. Кураков А.В., Ильинский В.В., Котелевцев С.В., и др. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях. М.: «Графикон», 2006.
19. Куюкина М.С., Ившина И.Б., Рычкова И.М., и др. Влияние состава клеточных липидов на формирование неспецифической антибиотикорезистентности алканотрофных родококков. Микробиология. 2000, 1: 62-69.
20. Милько Е.С., Егоров Н.С. Гетерогенность популяций бактерий и процесс диссоциации (корине- и нокардиоподобные бактерии). М.: Изд-во МГУ, 1991.
21. Миронов О. Г. Нефтеокисляющие бактерии Севастопольских бухт (итоги 30-летних наблюдений). Экология моря. 1999, 57: 89-90.
22. Миронов О.Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными углеводородами. Л.: Гидрометеиздат, 1985.
23. Мурзакова Г.Б., Битеева М.Б., Моршакова Г.Н. Биотехнология очистки нефтезагрязненных территорий: Обзорная информация. Защита окружающей среды, утилизация отходов, очистка сточных вод и выбросов, промышленная санитария и гигиена в медицинской промышленности. Медбиоэкономика. 1992, 3: 1-36.
24. Нестеренко О.А., Квасников Е.И., Ногина Т.М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. Киев: Наук. думка, 1985.
25. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. М.: Мир, 1997.
26. Павлова О.Н., Земская Т.И., Горшков А.Г., и др. Исследование микробного сообщества озера Байкал в районе естественных нефтепроявлений. Прикладная биохимия и микробиол. 2008, 3: 319-323.
27. Патин С.А. Экологические проблемы освоения нефтегазовых ресурсов морского шельфа. М.: Изд-во ВНИРО, 1997.
28. Рубцова С.И. Гетеротрофные бактерии – показатели загрязнения и самоочищения морской среды. Экология моря. 2002, 62: 81-84
29. Серебрякова Е.В., Дармов И.В., Медведев Н.П., и др. Оценка гидрофобных свойств бактериальных клеток по адсорбции на поверхности капель хлороформа. Журн. микробиол. 2002, 2: 237-239.
30. Сидоров Д.Г., Борзенко И.А., Ибатуллин Р.Р., и др. Полевой эксперимент по очистке почвы от нефтяного загрязнения с использованием углеводородокисляющих микроорганизмов. Прикладная биохимия и микробиол. 1997, 5: 497-502.
31. Современная микробиология. Прокариоты: В 2-х томах.: Пер. с англ. / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля. М., Мир, 2005.
32. Сопрунова О.Б. Циано-бактериальные сообщества в биodeградации нефтяных углеводов в почвах. Электронный журнал «Исследовано в России». 2005, 94: 991-998.
33. Сопрунова О.Б., Ключанова М.А. Штаммы-деструкторы нефтяных углеводов. Вестник АГТУ. 2007, 1: 180-183.

34. Ткебучаева Л.Ф., Комарова Т.И., Ильинский В.В., и др. Углеводородокисляющие и сульфатредуцирующие бактерии грунтов Можайского водохранилища. Водные ресурсы. 2004, 5: 606-610.
35. Хомякова Д.В., Ботвиненко И.В., Нетрусов А.И. Углеводородокисляющая микробиота нефтезагрязненных почв Крайнего Севера. В кн. Биоразнообразие восстанавливаемых территорий. СПб.: Наука, 2002.
36. Шамраев А.В., Шорина Т.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды. Вестник ОГУ. 2009, 6: 642-645.
37. Atlas R. M. Microbial Hydrocarbon Degradation. Bioremediation of oil spills. J. Chem. Technol – Biotechnol. 1991, 52: 149-156.
38. Atlas R.M., Bartha R. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation (ed. By K.C. Marshall). Adv. Microb. Ecol. 1992, 12: 287-338.
39. Bartha R., Atlas R.M. The microbiology of aquatic oil spills. Advances in Applied Microbiology. 1977, 22: 225-266.
40. Belyaev S.S., Borzenov I.A., Milekhina E.I., Zvyagintseva I.S., Ivanov M.V. Halotolerant and extremely halophilic oil-oxidizing bacteria in oil fields. Proc. of Intern. 1992 Conf. on Microbial Oil Recovery / Eds. Premuzic E., Woodhead A. Amsterdam: Elsevier. 1993. P. 79-88.
41. Buckley E.N., Jonas R.B., Fraender F.K. Characterization of microbial isolates from an estuarine ecosystem: relationship of hydrocarbon utilization to ambient hydrocarbon concentration. Appl. Environ. Microbiol. 1976, 32: 232-237.
42. Hisatsuka, K., T. Nakahara, T. Minoda, and K. Yamada. Formation of protein-like activator for n-alkane oxidation and its properties. Agric. Biol. Chem. 1977, 41: 445-450.
43. Sorkhoh N.A., Ghannoum M.A., Ibrahim A., Stretton R.J., Rdaman S.S. Crude oil and hydrocarbon degrading strains of Rhodococcus: Rhodococcus strains isolated from soil and marine environments in Kuwait. Environ. Pollut. 1990, 65: 1-18.

Поступила 20.06.2012

(Контактная информация: Гоголева Ольга Александровна - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории водной микробиологии Института клеточного и внутриклеточного симбиоза; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел. (3532) 775417; E-mail: olik-g@yandex.ru)