

На правах рукописи

ДРАЧУК Сергей Владимирович

**ФОТОГЕТЕРОТРОФНЫЕ ПУРПУРНЫЕ БАКТЕРИИ В ПОЧВАХ, ЗАГРЯЗНЁННЫХ
УГЛЕВОДОРОДАМИ**

03. 00. 16 – экология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Тюмень – 2004

Работа выполнена на кафедре экологии Уральского государственного университета им. А.М. Горького, г. Екатеринбург

Научный руководитель: кандидат биологических наук, профессор ФИРСОВ Николай Николаевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор РУСАНОВ Виктор Владимирович; кандидат ветеринарных наук БАЛАБАНОВА Галина Фёдоровна

Ведущая организация: Уральская государственная сельскохозяйственная академия

Защита состоится 3 июня 2004 г. в 15⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 212.274.08 по присуждению учёной степени кандидата биологических наук при Тюменском государственном университете по адресу: 625043, г. Тюмень, ул. Пирогова, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Тюменского государственного университета

Автореферат разослан 3 мая 2004 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

С.Н. Гашев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Широкое применение в хозяйственной деятельности человека нефти и нефтепродуктов приводит к загрязнению окружающей среды различными углеводородами. По данным А.М. Рябчикова (1974), при добыче и переработке нефти, а также при использовании нефтепродуктов во всем мире ежегодно теряется 45×10^6 тонн углеводородов. Возрастающие масштабы нефтяного загрязнения окружающей среды приводят к необходимости поиска методов борьбы с этими поллютантами. Главными природными деструкторами нефти и нефтепродуктов являются углеводородоокисляющие микроорганизмы. Поиск непосредственных деструкторов нефти или микроорганизмов, ускоряющих в смешанных культурах процессы потребления углеводородов, например благодаря способности к фиксации молекулярного азота - важная задача экологической биотехнологии.

Помимо методов рекультивации, предусматривающих интродукцию углеводородоокисляющих микроорганизмов в экосистему, большое значение приобретают методы, основанные на стимуляции естественной нефтеокисляющей микрофлоры (Коронелли, 1996). Поэтому необходимо изучать все группы микроорганизмов, способные участвовать в деструкции нефти и нефтепродуктов. Исследованию микроорганизмов, ассимилирующих углеводороды, посвящено огромное количество научных публикаций. Большинство авторов сосредоточило все внимание на аэробных хемогетеротрофных бактериях и грибах. Сведения о возможном участии в биодеградации нефти фотогетеротрофных микроорганизмов очень ограничены. В то же время, в литературе можно найти сообщения о распространении бактерий, способных к фотогетеротрофному росту в пластовых водах нефтяных месторождений, хотя причины этого явления окончательно не установлены (Розанова, Худякова, 1970; Розанова, 1971а). В обзоре, посвященном использованию аноксигенных фототрофных бактерий в биотехнологии (Sasikala, Ramana, 1995), приводятся данные о возможности роста пурпурных бактерий на средах с нефтепродуктами и об использовании этих микроорганизмов для очистки вод, загрязнённых углеводородами.

Фотогетеротрофные пурпурные бактерии ранее объединяли в группу пурпурных несерных бактерий (сем. *Rhodospirillaceae*). Данные геносистематики позволили отнести большую часть этих микроорганизмов к α – подклассу класса *Proteobacteria* (Stackebrandt *et al.*, 1988).

Пурпурные несерные бактерии обладают большим разнообразием метаболических путей и таким свойством, как способность к азотфиксации. Большой интерес может представлять их участие в биодеградации нефти в составе смешанных микробных культур или как самостоятельных деструкторов углеводородов. Совершенно неизученным остаётся вопрос о распространении этих микроорганизмов в почвах и грунтах, подверженных нефтяному загрязнению.

Цель настоящего исследования - изучение закономерностей распространения фотогетеротрофных пурпурных бактерий в почвах, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами, и оценка роли этих микроорганизмов в биодеградации углеводородов.

Основные задачи исследования:

1. Выявить наличие фотогетеротрофных бактерий в почвах и грунтах, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами. Определить их численность в этих природных субстратах в зависимости от величины углеводородного загрязнения, сравнить численность пурпурных бактерий с количеством аэробных нефтеокисляющих микроорганизмов.

2. Выделить из загрязнённых биоценозов чистые культуры фотогетеротрофных пурпурных бактерий и описать их физиологические и морфологические свойства с целью установления систематической принадлежности.

3. Установить, способность этих бактерий использовать нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии.

4. Выяснить способность пурпурных бактерий к совместному росту с аэробными нефтеокисляющими микроорганизмами на средах с нефтепродуктами. Установить влияние

пурпурных бактерий на рост нефтеокисляющих микроорганизмов и деструкцию ими углеводов.

Научная новизна. На основании изучения нефтезагрязнённых почвенных проб, отобранных в разных районах Среднего Урала и Западной Сибири, впервые показано, что фотогетеротрофные пурпурные бактерии являются частью почвенного микробоценоза в условиях загрязнения нефтью. В результате лабораторных опытов по интродукции штаммов пурпурных бактерий в почву выявлено влияние некоторых факторов на развитие этих микроорганизмов (концентрация дизельного топлива, влажность почвы, освещённость). Впервые выделены чистые культуры пурпурных бактерий из загрязнённой почвы, дана их физиологическая характеристика. Установлена возможность метаболического взаимодействия пурпурных бактерий и гетеротрофных нефтеокисляющих грибов и бактерий. Обнаружены штаммы фотогетеротрофных бактерий, способных расти в аэробных условиях на среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода и энергии.

Теоретическое и практическое значение работы. Полученные данные расширяют представление об экологии пурпурных бактерий, дают представление об участии этих микроорганизмов в биодеградации углеводов нефти. Результаты работы показывают, что нефтезагрязнённая почва является экологической нишей фотогетеротрофных пурпурных бактерий. Выделенные штаммы этих прокариот могут быть использованы для создания биопрепаратов для борьбы с нефтяным загрязнением на основе ассоциаций с аэробными нефтеокисляющими микроорганизмами. Данные о преимущественном развитии этих микроорганизмов в загрязнённой почве могут использоваться для разработки методов биоиндикации таких загрязнений.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В почвах и грунтах при загрязнении сырой нефтью или нефтепродуктами обнаружены фотогетеротрофные пурпурные бактерии, на основании морфологических и физиологических признаков отнесённые к роду *Rhodopseudomonas*, к видам *Rps. acidophila*, *Rps. palustris*.

2. Причинами развития пурпурных бактерий служит избыток доступных органических веществ (органических кислот), которые образуются при окислении углеводов нефтеокисляющей микрофлорой, главным образом, мицелиальными грибами.

3. Живые клетки и лизированная биомасса пурпурных бактерий (штамм *Rps. acidophila* S1) оказывают стимулирующее воздействие на рост аэробной нефтеокисляющей бактерии *Dietzia maris* в условиях, лимитирования по азоту.

4. Отдельные представители пурпурных бактерий способны к аэробному росту в темноте на среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода и энергии.

Апробация работы и публикации. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на конференциях молодых учёных «Современные проблемы экологии, микробиологии и иммунологии», Пермь, 1999; «Биосфера и человечество», Екатеринбург, 2000; «Современные проблемы популяционной, исторической и прикладной экологии», Екатеринбург, 2001; «Молодые учёные Волго-Уральского региона на рубеже веков», Уфа, 2001; «Современные проблемы экологии, микробиологии и иммунологии», Пермь, 2002; на I международной межвузовской школе-семинаре «Экология 2000: эстафета поколений», Москва, 2000; на научных конференциях «Б.П. Колесников – выдающийся отечественный лесовед и эколог», Екатеринбург, 1999; «Экобиотехнология: борьба с нефтяным загрязнением окружающей среды», Пушино, 2001; на международной научной конференции «Автотрофные микроорганизмы», Москва, 2000.

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ.

Объём и структура диссертации. Работа изложена на 145 страницах машинописного текста, содержит 9 таблиц и 40 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов экспериментальных иссле-

дований и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 150 литературных источников, из них 97 отечественных и 53 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отбор почвенных образцов. Пробы были отобраны на территории г. Екатеринбурга в местах точечных загрязнений нефтепродуктами (эстакады для ремонта автомобилей, места стоянок автотранспорта) в августе и сентябре 1999 года. Контролем служили почвенные пробы без визуальных признаков углеводородного загрязнения, отобранные на участках с травянистым покровом в непосредственной близости от загрязнённых участков. Кроме того, пробы почвы, загрязнённой нефтепродуктами, были взяты на территории одного из предприятий г. Екатеринбурга (сентябрь 2000 года). Глубина отбора почвы составляла 5 см. В сентябре 2002 года на территории того же предприятия были отобраны послойные пробы почвы с углеводородным загрязнением на глубинах 2, 4, 6, 8, 10 см.

Почву, загрязнённую сырой нефтью, отбирали в различных регионах: в Западной Сибири (в районе г. Сургута, пос. Победит; в районах населённого пункта Покачи, г. Урая и г. Югорска), в Предуралье (район г. Кунгура). Пробы почвы, загрязнённые сырой нефтью, были также отобраны в августе 2001 года в районе Тепловского и Мамонтовского нефтяных месторождений (Ханты-Мансийский АО). Пробы были отобраны на местах аварийных разливов нефти 1996 – 2001 годов. Типы почв – болотно-подзолистая и глеево-подзолистая. Грунт с различной степенью углеводородного загрязнения был отобран с полотна железной дороги в районе железнодорожной станции Первомайская (г. Екатеринбург) в июне 2002 года. Насыпной грунт представлял собой серпентинизированные перидотиты и серпентиниты (Баженовское месторождение, г. Асбест). Верховой пушицево-сфагновый торф, загрязнённый сырой нефтью был отобран в районе Саматлорского нефтяного месторождения.

Содержание нефтяных поллютантов в почвенных образцах определяли весовым методом. Углеводороды экстрагировали хлороформом, хлороформ отгоняли на водяной бане, маслянистый остаток взвешивали (Bragg *et al.*, 1992).

Определение численности почвенных микроорганизмов. Почвенные разведения, используемые для определения количества микроорганизмов в почве, готовили по общепринятой методике (Разумовская и др. 1960; Методы почвенной микробиологии, 1980).

Для определения количества анаэробных фотогетеротрофных бактерий в почве проводили посев в толщу питательной среды. В стерильные пробирки разливали по 1 мл соответствующего почвенного разведения, затем добавляли по 9 мл расплавленной и охлаждённой до 40 – 50⁰С среды для пурпурных несерных бактерий, тщательно перемешивая содержимое пробирок. Для создания анаэробноз столбик агаризованной среды в пробирке покрывали сверху слоем стерильного вазелинового масла. Пробирки инкубировали на свету (в люминистате) при температуре 30⁰С в течение 30 суток. По числу образовавшихся в толще агара дисковидных тёмно-красных колоний определяли количество фотогетеротрофных пурпурных бактерий в почве. Результаты выражали в пересчёте на 1 г сухого вещества почвы. В пробирках, помещённых в темноту, образования колоний пурпурных бактерий не наблюдали. Для выявления пурпурных бактерий в почве также осуществляли постановку накопительных культур, для чего в стеклянные флаконы объёмом 100 мл помещали 1 г исследуемой почвы, заливали соответствующей стерильной жидкой средой, закрывали флакон резиновой пробкой, икубировали на свету в термостате при 30⁰С в течение 30 суток. Среда для пурпурных несерных бактерий (среда ПНБ) имела следующий состав (г/л): яблочная кислота – 2.5; NH₄Cl – 1.2; MgSO₄·7H₂O – 0.2; CaCl₂ · 6H₂O – 0.07; K₂HPO₄ – 0.9; KH₂PO₄ – 0.6; дрожжевой экстракт – 0.5; агар-агар – 15; раствор микроэлементов по Пфеннигу – 4 мл (Руководство к ..., 1995). Для определения количества пурпурных бактерий, использующих масляную кислоту, эту кислоту вносили в среду в количестве 0.3 % вместо яблочной кислоты. Кроме того, в отдельных опытах в питательную среду в виде стерильного раствора добавляли бикарбонат

натрия до конечной концентрации 2 г/л, уровень рН среды стерильным раствором H_3PO_4 устанавливали в пределах 6.8 – 7.0.

Для определения количества аэробных нефтеокисляющих бактерий и нефтеокисляющих мицелиальных грибов проводили поверхностный посев на агаризованные питательные среды, разлитые в стерильные чашки Петри. Для определения числа аэробных нефтеокисляющих бактерий использовали агаризованную среду следующего состава (г/л): NH_4NO_3 – 1.0; KH_2PO_4 – 1.0; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 2.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; Na_2CO_3 – 0.2; NaCl – 1.0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.01; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0.02; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.01; агар–агар – 15. В качестве единственного источника углерода и энергии вносили 1 об. % дизельного топлива (Бердичевская и др. 1991). Количество нефтеокисляющих мицелиальных грибов определяли на агаризованной среде Чапека без сахарозы с дизельным топливом (1 об. %). После стерилизации рН среды доводили стерильным раствором H_3PO_4 до рН 5.0 – 5.5 (Каневская, 1984). Чтобы исключить рост бактерий на этой среде в неё добавляли антибиотики: бензилпенициллин (200 ед./мл) и тетрациклин (5 мкг/мл) (Литвинов, 1969; Методы экспериментальной микологии, 1982).

Рабочая коллекция бактериальных культур. В работе использовали штаммы фотогетеротрофных пурпурных бактерий, выделенные из почв, загрязнённых углеводородами. Помимо штаммов пурпурных бактерий, изолированных из почв, загрязнённых углеводородами, в работе использован штамм X, выделенный из смазочно-охлаждающей жидкости и любезно предоставленный сотрудником Института фундаментальных проблем биологии проф. И.Н.Гоговым. Кроме того, для проведения экспериментов использовали культуры *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodopseudomonas palustris* из коллекции кафедры микробиологии биологического факультета МГУ им. Ломоносова. Кроме этого, использовали культуру аэробных нефтеокисляющих бактерий, идентифицированных в Лаборатории алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН как *Dietzia maris*, и нефтеокисляющие плесневые грибы, выделенные из загрязнённой почвы.

Морфологию бактериальных клеток изучали методом фазово-контрастной световой микроскопии и методом электронной микроскопии.

Получение физиологической характеристики выделенных штаммов. Исследовали способность выделенных бактерий расти в автотрофных условиях на свету на среде с сульфидом натрия и бикарбонатом. Кроме того, определяли оптимальное значение рН среды, оптимум концентрации NaCl . Способность использовать органические вещества в качестве источников углерода проверяли на среде ПНБ, из которой была исключена яблочная кислота и в которую в количестве 0.3% вносили испытуемые соединения. О росте бактерий судили по изменению оптической плотности культуры при длине волны 590 нм. Оптическую плотность измеряли на фотоэлектроколориметре КФК–2–УХЛ–4.2. Количество бактериальных клеток в 1 мл культуральной жидкости определяли по соответствующей калибровочной кривой, которую строили по результатам прямого счёта бактериальных клеток на фиксированных окрашенных препаратах по Виноградскому.

Постановка опытов по интродукции пурпурных бактерий в почву. В опыте использовали тяжелосуглинистую почву, отобранную на территории парка в г. Екатеринбурге. В колбы объёмом 250 мл помещали по 50 г почвы, увлажнённой до 60 % полной влагоёмкости. Стерильное дизельное топливо вносили в количестве 10 %. Контролем служила почва без углеводородного загрязнения. В колбы с почвой вносили чистые культуры бактерий штамма S1 и бактерий коллекционной культуры *Rhodopseudomonas palustris* в количестве 10×10^3 клеток/г почвы. Колбы с почвой инкубировали на свету и в темноте. Количество фотогетеротрофных пурпурных бактерий определяли методом посева на соответствующую агаризованную питательную среду.

В опыте по установлению влияния концентрации нефтяного загрязнителя на фотогетеротрофные микроорганизмы в колбы с почвой вносили дизельное топливо в количестве 5, 10, 25 и 50 % и бактерии штамма S1 в том же количестве, что и в предыдущем опыте. Количество пурпурных бактерий определяли через 2 и через 8 месяцев методом посева на соот-

ветствующую агаризованную среду. Влажность почвы поддерживали на постоянном уровне (60 % полной влагоёмкости почвы).

Для выяснения влияния влажности почвы на выживание пурпурных бактерий в условиях углеводородного загрязнения в почву, подготовленную также, как и в предыдущих опытах, интродуцировали бактерии штамма S1 в количестве 100×10^3 клеток/г почвы. Стерильное дизельное топливо также вносили в количестве 10 %. Контролем служила почва без углеводородного загрязнения. Колбы инкубировали 30 суток при 30°C . В почву воду либо не вносили, либо вносили по 5 или по 20 мл стерильной водопроводной воды. По окончании инкубирования определяли влажность почвы путём высушивания навесок при 105°C и количество пурпурных бактерий методом посева на среду ПНБ.

Исследование роста пурпурных бактерий на культуральной жидкости грибов и совместного роста с грибами. Адаптированные к дизельному топливу грибы, отнесённые к родам *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, смывали с агаризованной среды и выращивали 14 суток на минеральном фоне среды ПНБ с 1 об. % дизельного топлива. Мицелий грибов вносили в количестве 20 – 30 мг сухой биомассы/л. Из среды исключали источник азота, чтобы увеличить выход органических кислот. Культивирование проводили в колбах объёмом 500 мл, объём среды составлял 100 мл. Грибы образовывали поверхностную плёнку. Культуральную жидкость разных штаммов грибов, освобождённую от грибных плёнок, разбавляли в 2 раза свежим минеральным фоном ПНБ и инокулировали пурпурными бактериями. Культивировали в течение одного месяца в анаэробных условиях на свету. Контролем служил минеральный фон среды ПНБ. В другом варианте опыта пурпурные бактерии штамма S1 вносили в ту же среду, что и в предыдущем опыте, непосредственно вместе с грибами. Культивирование осуществляли на свету в колбах объёмом 500 мл с ватными пробками (микроаэробные условия) в течение одного месяца, объём среды составлял 100 мл. Контролем служил минеральный фон среды ПНБ с 1 об. % дизельного топлива. После отделения биомассы грибов фильтрованием через бумагу, измеряли оптическую плотность культуральной жидкости и по этим показателям судили о росте пурпурных бактерий. О способности нефтеокисляющих грибов накапливать органические кислоты в культуральной жидкости судили при помощи метода потенциометрического титрования (Корчемная и др., 1966).

Постановка опытов для выяснения влияния лизата клеток пурпурных бактерий на рост аэробной нефтеокисляющей актинобактерии. Для опыта использовали среду «К» (г/л): KNO_3 – 1.0; K_2HPO_4 – 1.0; KH_2PO_4 – 1.0; NaCl – 1.0; $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0.2; CaCl_2 – следы; FeCl_3 – следы; pH среды – 6.8 – 7.0 (Малашенко и др., 1973).

Лизат клеток пурпурных бактерий готовили следующим образом: клетки бактерий штамма S1 осаждали центрифугированием, отмывали средой «К» без источника азота, снова суспендировали в той же среде и кипятили 15 минут на водяной бане и центрифугированием осаждали лизированные клетки. Супернатант, содержащий бактериальный белок использовали для выращивания аэробной углеводородокисляющей актинобактерии *Dietzia maris* (штамм A2). Количество белка в супернатанте определяли методом Лоури (Практическая химия белка, 1989). Источником углерода служили пары керосина. Контролем служила среда «К» с KNO_3 в качестве источника азота и с керосином, среда «К» без азота с керосином и среда «К» с лизатом клеток без керосина и без источника азота. Культивирование *D. maris* проводили в течение 10 суток в аэробных условиях на роторной качалке (80 оборотов/мин). О росте судили по изменению оптической плотности культуры при длине волны 590 нм. Аналогичный опыт проводили, используя в качестве источника углерода вместо керосина натриевую соль бензойной кислоты (0.3 %).

Постановка опыта по определению возможности совместной ассимиляции дизельного топлива актинобактерией *D. maris* и пурпурной бактерией штамма S1. Опыт проводили с целью выяснить, оказывают ли азотфиксирующие фотогетеротрофные бактерии положительное влияние на нефтеокисляющие микроорганизмы в условиях недостатка азота. В колбы объёмом 500 мл разливали по 100 мл среды «К» без источника азота, вносили эмульгированное ультразвуком дизельное топливо. Опыт ставили в следующих вариантах: в

одном варианте среду с дизельным топливом засеивали бактериями *D. maris* A2 и вносили в среду источник азота (KNO_3 в концентрации 1 г/л), в другом варианте среду также засеивали бактериями *D. maris* A2, но источник азота не вносили, в третьем варианте бактерии *D. maris* A2 вносили вместе с живыми пурпурными бактериями (штамм S1) без источника азота. Пурпурные бактерии были адаптированы к фиксации молекулярного азота. Контролем служила стерильная среда с дизельным топливом. *D. maris* вносили в количестве 40 мг сухого веса на 1 л среды, штамм S1 вносили в избытке – 1 г/л. Культивировали 10 суток на свету без перемешивания (микроаэробные условия). Остаточную концентрацию дизельного топлива определяли на базе Центра химико-аналитических испытаний “Эксорб” (г. Екатеринбург) методом инфракрасной фотометрии.

Статистическая обработка результатов. Математическую обработку полученных данных осуществляли с использованием компьютерных программ Excel (Microsoft Inc., 1985 – 1997), STATISTICA for Windows, v. 5.0 (Stat Soft Inc., 1995), рассчитывая среднюю арифметическую, стандартную ошибку средней арифметической, доверительный интервал. Достоверность различий между средними величинами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента (уровень значимости $p < 0.05$). Для решения отдельных задач применяли корреляционный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительное изучение численности фотогетеротрофных пурпурных бактерий и аэробных нефтеокисляющих микроорганизмов в почвах. В табл. 1 представлены результаты определения количества фотогетеротрофных пурпурных бактерий, аэробных нефтеокисляющих бактерий и нефтеокисляющих грибов в почвах с различной степенью загрязнения углеводородами. Фотогетеротрофные пурпурные бактерии методом посева на агаризованные питательные среды обнаружены только в загрязнённых пробах. Их количество варьировало от 0.7 до 570×10^3 клеток на 1 г почвы, если определение проводилось на среде с малатом и от 0.3 до 51×10^3 клеток - на среде с бутиратом. В контрольных пробах без нефтяного загрязнения эти микроорганизмы, за одним исключением, обнаружены не были. Эта закономерность была подтверждена в результате постановки накопительных культур. В накопительных культурах с контрольными почвенными пробами рост пурпурных бактерий не наблюдался, при постановке накопительных культур с загрязнёнными пробами на среде ПНБ на свету в анаэробных условиях рост пурпурных бактерий был отчётливо виден.

Таблица 1.

Микрофлора антропогенно изменённых почв с различным содержанием углеводородов возле эстакад для ремонта автомобилей.

Содержание углеводородов, %	Фототрофные бактерии на среде с орг. $\times 10^3$ клеток/г		Нефтеокисляющие бактерии, $\times 10^6$ клеток/г сух. почвы	Нефтеокисляющие грибы, $\times 10^3$ КОЕ/г сух. почвы
	яблочная к-та	масляная к-та		
16.5	570.2	39.4	111.0	159.6
11.7	220.0	0	990.0	12.6
10.9	0.7	0.3	150.0	14.1
9.5	22.3	6.4	4.2	66.7
7.3	2.1	2.2	9.5	6.2

5.7	14.8	1.9	0.8	16.1
3.0	31.1	13.0	32.9	61.9
2.8	1.3	2.2	0.12	16.8
2.7	25.5	0	8.8	4.8
2.4	12.0	0.8	18.5	38.0
1.6	105.0	6.1	39.5	47.6
1.2	130.0	51.5	10.6	2.5
0.5	0	0	118.0	37.0
0	0.4	0	20.1	36.5
0	0	0	3.6	3.4
0	0	0	65.2	43.5
0	0	0	2.3	10.4
0	0	0	28.3	7.6
0	0	0	2.0	10.3
0	0	0	3.2	19.4
0	0	0	9.8	16.8

Сравнивая результаты определения количества трёх групп микроорганизмов, можно прийти к заключению, что количество аэробных нефтеокисляющих бактерий в исследованных пробах было значительно больше, чем количество нефтеокисляющих мицелиальных грибов и фотогетеротрофных бактерий. Именно аэробные нефтеокисляющие бактерии являются главными деструкторами углеводов в почве. Однако обнаружение пурпурных бактерий в почве уже само по себе может чётко указать на нефтяное загрязнение. На этом основании можно сделать вывод, что фотогетеротрофные пурпурные бактерии могут служить индикаторной группой на наличие углеводородного загрязнения почвы.

Результаты изучения послонных почвенных проб, загрязнённых нефтепродуктами, показали, что фотогетеротрофные пурпурные бактерии способны проникать в почву на глубину до 10 см. Их развитие не зависит от света. Распределение этих микроорганизмов в почвенных горизонтах сходно с характером распределения углеводородных поллютантов. Исследование микрофлоры почв, загрязнённых нефтепродуктами, позволяют высказать предположение, что почвы, которые подвергаются действию углеводородных поллютантов, становятся своеобразной экологической нишей для пурпурных бактерий. Пурпурные бактерии являются частью микробоценоза почв с углеводородным загрязнением.

Фотогетеротрофные пурпурные бактерии обнаружены не только в почвах, загрязнённых нефтепродуктами, но и в почвах, загрязнённых сырой нефтью. Эти микроорганизмы найдены в пробах, отобранных в Западной Сибири (район г. Сургу́та, г. Урая, г. Югорска, нас. пункта Покачи) и в Приуралье (район г. Кунгу́ра). Изучение почвенных проб, отобранных в августе 2001 года в районе Тепловского и Мамонтовского месторождений нефти, также показывает, что пурпурные бактерии способны к развитию в почвах с нефтяным загрязнением. В контрольных пробах эти прокариоты обнаружены не были. В пробах со слабым нефтяным загрязнением (содержание нефти 0.3 – 6.7 %) эти микроорганизмы обнаружены в 80 % проб, при среднем уровне загрязнения (10 – 40%) – во всех пробах, при сильном загрязнении (выше 40 %) фотогетеротрофные прокариоты не выявлены. Количество аэробных нефтеокисляющих бактерий превосходило количество пурпурных бактерий и мицелиальных грибов. В контроле их численность достигала $0.01 - 38.3 \times 10^6$ клеток/г почвы, при слабом загрязнении – $0.6 - 727.3 \times 10^6$ клеток/г почвы, при среднем и сильном уровнях загрязнения – $0.57 - 491.8 \times 10^6$ клеток/г почвы. Количество грибов при тех же уровнях загрязнения изменялось, соответственно, от 0.4 до 7.7×10^3 КОЕ/г почвы, $3.03 - 517.6 \times 10^3$ КОЕ/г почвы, $0.4 - 6039 \times 10^3$ КОЕ/г почвы.

Исследование верхового пушицево-сфагнового торфа, отобранного в районе Саматлорского нефтяного месторождения, показало, что пурпурные бактерии встречаются в этом

природном субстрате независимо от наличия нефтяного загрязнения. Пурпурные бактерии являются обычными обитателями торфа, что, видимо, связано с высокой влажностью на болотах и большим количеством органического вещества в этом субстрате. Благодаря способности к азотфиксации эти прокариоты могут успешно конкурировать с другими гетеротрофными бактериями в условиях верховых болот, отличающихся недостатком азота. Для торфа пурпурные бактерии не могут выступать в качестве индикаторов нефтяного загрязнения. Полученные данные о распространении пурпурных бактерий в торфе согласуются с данными литературы (Imhoff, Trüper, 1991).

Сравнительное изучение численности фотогетеротрофных пурпурных бактерий и нефтеокисляющих микроорганизмов в грунте. На рис. 1. представлены результаты изучения количества фотогетеротрофных пурпурных бактерий в грунте полотна железной дороги в зависимости от концентрации нефтяного загрязнителя. Эти бактерии обнаружены в грунте при концентрации углеводов 0.9 – 4.1 % (максимум численности при 1.8 %). В незагрязнённом грунте они отсутствуют. При концентрации 10.7 % в грунте обнаруживаются только отдельные колонии пурпурных бактерий в пересчёте на 1 г. Максимум численности аэробных нефтеокисляющих бактерий и грибов наблюдался также при содержании углеводов 1.8 %. Количество аэробных нефтеокисляющих бактерий на два-три порядка было больше,

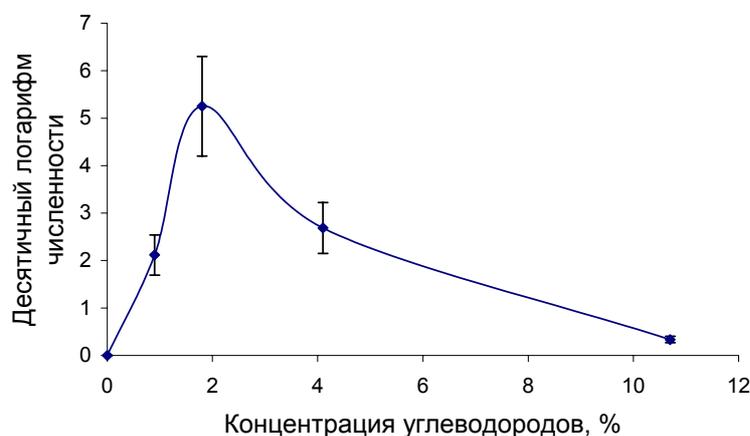


Рис. 1. Изменение количества фотогетеротрофных пурпурных бактерий в грунте (в расчёте на 1г) в зависимости от концентрации углеводородного загрязнителя.

чем количество пурпурных бактерий и грибов. В целом, пурпурные бактерии чувствительнее к избыточным концентрациям углеводов, чем нефтеокисляющие грибы и бактерии. Микрофлора грунта, в свою очередь, чувствительнее к избытку углеводов, чем микрофлора почв. При загрязнении больше 10 % количество аэробных нефтеокисляющих бактерий и грибов в грунте снижается по сравнению с почвами при аналогичном уровне загрязнения. Это можно объяснить недостатком биогенных элементов в грунте по сравнению с почвами.

Подводя итог исследованиям микрофлоры грунта на полотне железной дороги, необходимо подчеркнуть, что и в этом случае распространение пурпурных бактерий связано с наличием углеводородного поллютанта.

Заселение загрязнённых почв могут, вероятно, осуществлять пурпурные бактерии, населяющие водные местообитания. Эта группа микроорганизмов широко распространена в различных водоёмах (Горленко и др., 1977). Перемещение этих бактерий возможно с талыми или дождевыми водами.

Систематическая принадлежность выделенных штаммов пурпурных бактерий. Изучение морфологии бактерий штаммов S1, S5, X методом электронной микроскопии указывают на возможность отнесения этих микроорганизмов к роду *Rhodopseudomonas*. В

пользу этого можно привести следующие доказательства: наличие в жизненном цикле подвижных клеток с субполярными жгутиками, способность к неравномерному делению (почкованию), внутриклеточные мембраны в виде ламелл, подстилающих цитоплазматическую мембрану и расположенных параллельно ей, грамотреицательный тип клеточной стенки (Определитель бактерий Берджи, 1997).

Морфологию клеток пурпурных бактерий штаммов М2, М3, Е8, выделенных из нефтезагрязнённых почв г. Екатеринбурга, и бактерий штамма МЮЗ из почвы г. Югорска исследовали при помощи светового микроскопа с фазово-контрастным устройством. Клетки имели форму палочек, у исследуемых бактерий наблюдалось неравномерное деление. В молодых культурах многие бактерии были подвижны, в старых культурах были видны агломераты в форме розеток. Морфология клеток выделенных штаммов была сходна с морфологией клеток коллекционной культуры *Rhodopseudomonas palustris*. Перечисленные штаммы также могут быть отнесены к роду *Rhodopseudomonas*.

Фенотипические признаки бактерий выделенных штаммов позволяют судить о принадлежности их к тем или иным видам рода *Rhodopseudomonas*. Бактерии *Rps. sp. S1* и *Rps. sp. S5* отнесены к виду *Rps. acidophila*. В пользу этого утверждения свидетельствуют следующие признаки: сидячая отпочковывающаяся клетка, рост при относительно низких значениях рН, неспособность использовать бензоат в качестве источника углерода, размеры клеток, близкие к размерам клеток *Rps. acidophila*, сходный спектр потребляемых субстратов (Bergey's Manual ..., 1989). Бактерии *Rps. sp. M2* и *Rps. sp. M3* по ряду фенотипических признаков также могут быть отнесены к *Rps. acidophila*, бактерии штаммов Х, Е8 – к *Rps. palustris*, бактерии штамма МЮЗ - к *Rps. rutila*. Наиболее предпочтительными субстратами для изучаемых микроорганизмов были органические кислоты (яблочная, янтарная, уксусная и др.).

Интродукция пурпурных бактерий в почву. Если в почву вносили пурпурные бактерии *Rps. acidophila S1* (10×10^3 клеток/г почвы), то через 2 месяца в колбах с незагрязнённой почвой их количество резко уменьшалось, а через 8 месяцев они вообще не обнаруживались. В колбах с загрязнённой почвой их количество значительно увеличивалось, что указывает на наличие благоприятных условий для роста пурпурных бактерий в такой почве (табл. 2). Интересно отметить, что пурпурные бактерии развивались в загрязнённой почве как при освещении колб, так и в темноте. Это указывает на темновой рост бактерий *Rps. acidophila S1* в почве, загрязнённой дизельным топливом. Данные о темновом росте пурпурных бактерий согласуются с результатами изучения микрофлоры почвенных горизонтов, которые показывают, что эти микроорганизмы развиваются в почве на глубине 9 – 10 см.

Таблица 2

Численность бактерий *Rps. acidophila S1* в почве в лабораторном опыте после интродукции в количестве 10×10^3 клеток на 1 г почвы

Варианты опыта	Количество бактерий, $\times 10^3$ клеток/г почвы			
	через 2 месяца		через 8 месяцев	
	на свету	в темноте	на свету	в темноте
Дизельное топливо	740.0	1050.0	600.0	1230.0
Без диз. топлива (контроль)	0.2	1.5	не обнаружены	не обнаружены

Пурпурные бактерии *Rps.acidophila* S1 развивались в почве при концентрациях дизельного топлива 5, 10, 25 %. В незагрязненной почве и при 50 %-м загрязнении через 2 месяца пурпурные бактерии не выявлены не были. 50 %-е загрязнение, вероятно, полностью исключает доступ кислорода, что подавляет нефтеокисляющую микрофлору. Кроме того, нельзя исключать токсического воздействия избытка дизельного топлива непосредственно на пурпурные бактерии.

Аналогичные опыты, проведенные с коллекционными культурами показали, что бактерии *Rhodospirillum rubrum* не сохраняют жизнеспособность ни в загрязненной почве, ни в контрольной. Единичные клетки *Rhodobacter sphaeroides* сохранялись только в незагрязненной почве. Бактерии *Rps. palustris* развивались в загрязненной почве (на свету и в темноте). Их численность возрастала с 10×10^3 на 1 г почвы до $1-2 \times 10^6$ клеток/г почвы. Судя по этим данным, способностью к заселению почв с углеводородным загрязнением обладают представители рода *Rhodopseudomonas*.

Вероятно, определённую роль в распространении этих бактерий в почве при нефтяном загрязнении играет то обстоятельство, что углеводородная плёнка может удерживать влагу в почве, препятствуя её полному высыханию. Пурпурные бактерии рода *Rhodopseudomonas* не выдерживают высыхания, не образуют спор или цист. Они являются, главным образом, водными микроорганизмами. Влияние увлажнения на выживание пурпурных бактерий (*Rps. acidophila* S1) в лабораторном опыте в почве показано в табл. 3.

Таблица 3

Влияние увлажнения на выживание *Rps. acidophila* в почве при углеводородном загрязнении (10 % диз. топлива)

Вносимое кол-во воды, мл (на 50 г почвы)	Влажность почвы в опыта, %		Пурпурные бактерии, клеток/г почвы	
	без диз. топлива	с диз. топливом	без диз. топлива	с диз. топливом
0	7.4	15.0	0.1	88.8
5	30.8	33.0	2.9	386.3
20	46.4	51.8	0.2	28.3

Данные табл. 3 показывают, что при отсутствии дополнительного увлажнения плёнка дизельного топлива удерживает воду, и влажность загрязнённой почвы после 30 суток проведения опыта была в два раза больше влажности контрольной почвы (15 и 7.4 %, соответственно). Количество пурпурных бактерий в загрязнённой почве также значительно превосходило их количество в контрольной почве. Однако сохранение влаги в почве – не единственная причина распространения пурпурных бактерий в почве при нефтяном загрязнении, т. к. даже при значительном увлажнении незагрязнённой почвы (30.8 и 46.4 %) количество бактерий *Rps. acidophila* S1 не достигло количества этих микроорганизмов в почве с дизельным топливом. Развитию этих бактерий в загрязнённой почве может способствовать подавление углеводородами конкурентов (других бактерий) или хищников (амёб, инфузорий), а также накопление доступных субстратов (органических кислот – продуктов неполного окисления алканов). Нельзя исключать непосредственную ассимиляцию углеводов пурпурными бактериями.

Влияние нефтепродуктов на рост пурпурных бактерий. Возможность ассимиляции пурпурными бактериями углеводов. Исследовали влияние дизельного топлива на рост *Rps. acidophila* S1 на среде ПНБ с малатом и дрожжевым экстрактом на свету в ана-

эробных условиях. На протяжении пяти пассажей бактерии росли как в отсутствие дизельного топлива, так и с добавлением его в количестве одного объёмного процента. На среде с дизельным топливом наблюдалось некоторое замедление роста. В третьем пассаже константа скорости деления уменьшилась на 30 % по сравнению с контролем. Это уменьшение было статистически достоверным согласно t – критерию Стьюдента. В четвёртом и пятом пассажах статистически достоверного уменьшения скорости деления под влиянием дизельного топлива обнаружено не было, следовательно, эти микроорганизмы способны к адаптации к токсическому воздействию нефтепродуктов. При наличии субстрата исследуемые бактерии могут длительное время расти в присутствии такого нефтепродукта, как дизельное топливо. Бактерии *Rps. acidophila* S1, *Rps. acidophila* S5 и *Rps. palustris* X росли на полной среде ПНБ в присутствии дизельного топлива, смазочного и вазелинового масел, хотя на *Rps. palustris* X угнетающее действие оказали дизельное топливо и вазелиновое масло, на *Rps. acidophila* S5 – смазочное масло.

Бактерии выделенных штаммов пурпурных бактерий не росли на средах с нефтепродуктами на свету в анаэробных условиях, если эти нефтепродукты вносили в качестве единственного источника углерода. Потенциальные акцепторы электронов (нитрат, бикарбонат) также не способствовали анаэробному росту на средах с углеводородами.

В анаэробных накопительных культурах (с нитратом и бикарбонатом) также не наблюдалось развития пурпурных бактерий на свету. В качестве инокулята для этих культур использовалась почва, загрязненная углеводородами и заселенная пурпурными бактериями (место отбора - в районе г. Сургута и г. Кунгура).

Аэробного роста в темноте у бактерий *Rps. acidophila* S1, *Rps. acidophila* S5 и *Rps. palustris* X на углеводородах также не обнаружено. Однако проверка 20 штаммов пурпурных бактерий, выделенных из почв с углеводородным загрязнением, показала, что у бактерий *Rps. acidophila* M2, *Rps. palustris* E8 и у бактерий коллекционной культуры *Rps. palustris* наблюдается медленный рост в темноте на среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода и энергии в аэробных условиях. На поверхности агаризованной среды (минеральный фон ПНБ с 1 об. % дизельного топлива) эти бактерии образовывали бесцветные точечные колонии. Через 14 суток прирост белка у бактерий *Rps. acidophila* M2 на жидкой среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода и энергии в аэробных условиях превысил контроль на 45 %, у *Rps. palustris* E8 – на 31 %, у коллекционной культуры *Rps. palustris* – на 15 %. У трёх других штаммов (*Rps. acidophila* S1, *Rps. acidophila* M3 и *Rps. rutila* МЮЗ) увеличение количества белка было статистически недостоверным (согласно t – критерию Стьюдента). Приведённые данные свидетельствуют, что у трёх штаммов пурпурных бактерий есть способность к аэробной ассимиляции дизельного топлива в темноте, однако их рост на дизельном топливе гораздо более медленный по сравнению с ростом родококков и псевдомонад.

Рост пурпурных бактерий на культуральной жидкости грибов. Совместный рост с грибами. Причиной развития пурпурных бактерий в почве при нефтяном загрязнении может быть накопление продуктов неполного окисления углеводородов. Такими продуктами могут быть различные органические кислоты. Для проверки такой возможности пурпурные бактерии различных штаммов выращивали на культуральной жидкости нефтеокисляющих мицелиальных грибов (на свету, в анаэробных условиях). Бактерии штаммов *Rps. acidophila* S1, *Rps. acidophila* S5 и *Rps. palustris* X росли на культуральной жидкости большей части нефтеокисляющих грибов. Рост исследуемых пурпурных бактерий на культуральной жидкости грибов наблюдался также в аэробных условиях в темноте. Бактерии коллекционной культуры *Rps. palustris* также росли на культуральной жидкости грибов.

Пурпурные бактерии *Rps. acidophila* S1 могли расти совместно с нефтеокисляющими грибами на свету в микроаэробных условиях при лимите азота. Грибы образовывали поверхностную пленку, пурпурные бактерии оседали на дно. Эти ассоциации могут, видимо, развиваться благодаря способности грибов при росте на дизельном топливе в условиях лимита по азоту накапливать в среде органические кислоты. Пурпурные бактерии, в свою очередь, спо-

собны к азотфиксации и могут ассимилировать органические кислоты. В контроле на среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода (без нефтеокисляющих грибов) роста исследуемых пурпурных бактерий не наблюдалось.

Создание искусственных ассоциаций нефтеокисляющих микроорганизмов и пурпурных несерных бактерий. Исследовали влияние лизата клеток пурпурных бактерий *Rps. acidophila* S1 (133 мкг белка/мл среды) на рост бактерий *Dietzia maris* A2 на среде с керосином в условиях недостатка азота. Контролем служил рост *D. maris* на среде с керосином и с нитратом калия, рост на среде с керосином без азота и рост на среде без керосина и без азота, но с добавлением клеточного лизата. Рост *D. maris* A2 на среде с керосином и лизатом клеток пурпурных бактерий составил 14.8×10^6 клеток/мл и превосходил рост на среде с керосином без азота (2.7×10^6 клеток/мл среды) и на среде с лизатом без керосина (6.2×10^6 клеток/мл среды), хотя и уступал росту на среде с керосином и с нитратом калия (34.9×10^6 клеток/мл среды). Отличия между вариантами опыта были достоверными согласно *t* – критерию Стьюдента. Аналогичные данные получены при замене керосина на бензойную кислоту (0.3 %) – ароматическую кислоту, потребление которой является характерным признаком бактерий *D. maris*. Таким образом, лизированная биомасса пурпурных бактерий может компенсировать недостаток азота в среде при аэробном росте углеводородокисляющей бактерии *D. maris* A2 на среде с керосином и с бензойной кислотой.

Живые фотосинтезирующие бактерии *Rps. acidophila* S1, адаптированные к фиксации молекулярного азота, оказывали положительное влияние на окисление дизельного топлива бактериями *D. maris* A2 в микроаэробных условиях на свету при недостатке азота. Исходная концентрация дизельного топлива составляла 59.0 мг/л среды, после 10 суток культивирования чистой культуры нефтеокисляющих бактерий *D. maris* A2 на среде без азота количество дизельного топлива уменьшилось до 46.7 мг/л, после культивирования смешанной культуры *D. maris* A2 и азотфиксирующих пурпурных бактерий - до 36.4 мг/л.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что фотогетеротрофные пурпурные бактерии являются частью микробного сообщества почв и грунтов при загрязнении нефтяными углеводородами.

2. Показано, что пурпурные бактерии встречаются в почвах при концентрации углеводородов от 0.4 до 39 %, в грунте – от 0.9 до 4.1 %. При отсутствии углеводородного загрязнения эти микроорганизмы не обнаружены или представлены единичными клетками в пересчете на 1 г почвы.

3. Максимальное количество пурпурных бактерий, зафиксированное при загрязнении почвы нефтепродуктами, достигало 0.57×10^6 клеток/г почвы и наблюдалось при концентрации углеводородов 16.5 %. При загрязнении почвы сырой нефтью максимальная численность достигала 7.7×10^6 клеток/г при концентрации нефти 16.1 %. В грунте максимальное количество составило 1.05×10^7 клеток/г при уровне загрязнения 1.8 %.

4. Установлены концентрации углеводородов, подавляющие развитие пурпурных бактерий в почвах и грунте. Эти бактерии не обнаружены в почвах при концентрации углеводородов выше 40 %, а в грунте – при концентрации выше 10 %.

5. Установлено, что количество пурпурных бактерий в почве в летнее время на два – три порядка меньше численности аэробных гетеротрофных нефтеокисляющих бактерий и сопоставимо с количеством колониеобразующих единиц нефтеокисляющих мицелиальных грибов. В исследованных почвенных образцах при слабом углеводородном загрязнении (1.2 – 9.5 %) количество пурпурных бактерий варьировало в диапазоне $1.3 - 130.0 \times 10^3$ клеток/г почвы, количество аэробных нефтеокисляющих бактерий – в диапазоне $0.8 - 39.5 \times 10^6$ клеток/г почвы, количество нефтеокисляющих грибов достигало $2.5 - 66.7 \times 10^3$ КОЕ/г почвы.

6. Выделенные из нефтезагрязнённых почв чистые культуры фотогетеротрофных пурпурных бактерий на основании морфологических и физиологических признаков отнесены к роду *Rhodopseudomonas*, к видам *Rps. acidophila*, *Rps. palustris*.

7. Среди 20 штаммов пурпурных несерных бактерий, выделенных из загрязнённых почв, способность к аэробному росту в темноте на среде с дизельным топливом в качестве единственного источника углерода и энергии обнаружена у *Rps. acidophila* M2 и *Rps. palustris* E8, а также у бактерий коллекционной культуры *Rps. palustris*. Данные в пользу анаэробной ассимиляции углеводов не получены.

8. Показана возможность роста пурпурных бактерий за счёт органических кислот, образующихся в результате неполного окисления нефтепродуктов мицелиальными грибами. Этот факт позволяет объяснить массовое развитие пурпурных бактерий в почве с нефтяным загрязнением.

9. Установлено, что присутствие азотфиксирующих фотогетеротрофных пурпурных бактерий компенсирует недостаток азота в среде и оказывает положительное влияние на окисление углеводов аэробными гетеротрофными бактериями *Dietzia maris*.

10. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования фотогетеротрофных пурпурных бактерий в качестве индикаторов слабого нефтяного загрязнения почв (1-10 % углеводов). Кроме того, они могут быть включены в биопрепараты, применяемые для рекультивации территорий, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Драчук С.В., Щербакова О.А., Фирсов Н.Н. Фототрофные бактерии в почвах, загрязнённых нефтепродуктами//Современные проблемы экологии, микробиологии и иммунологии: Матер. региональной конф. молодых учёных. – Пермь, 1999. – С. 82.

2. Драчук С.В., Фирсов Н.Н., Маркина А.И., Помаз Н.А., Смирнова Д.Г. Пурпурные несерные бактерии в почвах нефтезагрязнённых территорий//Б.П. Колесников – выдающийся отечественный лесовед и эколог: Матер. научной конф. – Екатеринбург, 1999. – С.33.

3. Драчук С.В., Фирсов Н.Н., Маркина А.И., Помаз Н.А., Смирнова Д.Г. Фототрофные пурпурные бактерии в нефтезагрязнённых почвах//Экология 2000: эстафета поколений: Матер. I международной межвузовской школы – семинара. – Москва, 2000. – С. 13-14.

4. Драчук С.В., Маркина А.И., Смирнова Д.Г., Фирсов Н.Н. Роль пурпурных несерных бактерий в природных процессах биодegradации углеводов//В кн.: Биосфера и человечество. Сборник матер. конф. молодых учёных, посвящённой памяти Н.В. Тимофеева-Ресовского. – Екатеринбург: Изд-во «Екатеринбург», 2000. - С. 80-81.

5. Драчук С.В., Фирсов Н.Н. Пурпурные несерные бактерии в почвах, загрязнённых нефтепродуктами//Автотрофные микроорганизмы: Матер. международной научной конф. – Москва, 2000. – С. 75-76.

6. Драчук С.В., Фирсов Н.Н. Распространение пурпурных несерных бактерий в почвах, загрязнённых нефтепродуктами//Экобиотехнология: борьба с нефтяным загрязнением окружающей среды: Матер. научной конф. – Пушкино, 2001. – С. 38-39.

7. Драчук С.В., Маркина А.И., Смирнова Д.Г. Роль пурпурных несерных бактерий в биодegradации углеводов нефти//В кн.: Современные проблемы популяционной, исторической и прикладной экологии. - Екатеринбург: Изд-во «Екатеринбург», 2001. – С. 62-71.

8. Драчук С.В., Фирсов Н.Н. Дegradация углеводов смешанными культурами нефтеокисляющих мицелиальных грибов и пурпурных несерных бактерий//Молодые учёные Волго-Уральского региона на рубеже веков: Матер. научной конф. молодых учёных. – Т.1. – Уфа, 2001. – С. 48-49.

9. Драчук С.В., Морозов А.Е., Захарова И.А., Ельчищева И.Е. Пурпурные несерные бактерии как компонент микрофлоры нефтезагрязнённых почв//Современные проблемы экологии, микробиологии и иммунологии: Матер. межрегиональной конф. молодых учёных. – Пермь, 2002. – С. 37-38.

10. Драчук С.В., Кокшарова Н.В., Фирсов Н.Н. Микрофлора почв, загрязнённых нефтепродуктами//Экология. – 2002. - №2. – С. 148-150.

11. Драчук С.В., Фирсов Н.Н., Морозов А.Е. Фотогетеротрофные пурпурные бактерии в почвах и грунтах, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами//Теоретические и практические вопросы мониторинга, предупреждения, ликвидации и рекультивации последствий нефтяного загрязнения: Матер. научно-практической конф. – Тюмень, 2003. – С. 14 -17.

12. Аткина Л.И., Драчук С.В., Залесов С.В., Лопатин К.И. Опыт использования торфа как адсорбента при рекультивации нефтяных загрязнений//В кн.: Леса Урала и хозяйство в них. Межвузовский сборник научных трудов. – Вып. 24. - Екатеринбург: Изд-во УГЛТУ, 2004. - С. 100 – 107 (в печати).

Драчук Сергей Владимирович

ФОТОГЕТЕРОТРОФНЫЕ ПУРПУРНЫЕ БАКТЕРИИ В ПОЧВАХ,
ЗАГРЯЗНЁННЫХ УГЛЕВОДОДАМИ

Автореферат

Подписано в печать. Формат 60x84 1/16.
Набор компьютерный. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 1.
Тираж 100 экз. Заказ № . Печать офсетная.
Отпечатано в ИПЦ “Изд-во УрГУ”.
г. Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.