

Использование организмов и биосистем в ремедиации территорий

© 2009. Л.И. Домрачева, д.б.н., профессор, с.н.с.,
Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Вят ГГУ,
e-mail: ecolab2@gmail.com

В обзоре рассматриваются пути ремедиации загрязнённых территорий с использованием микробов-интродуцентов, микробных консорциумов, высших растений, а также растительно-микробных комплексов.

The survey deals with ways of contaminated territories remediation with the help of fungi-introducers, microbe consortiums, higher plants, and plant-microbe complexes.

Ключевые слова: почва, водные экосистемы, загрязнение, детоксикация, фиторемедиация, микроорганизмы, биопрепараты

Key words: soil, water ecosystems, contamination, detoxicity, phytoremediation, microorganisms, bio-preparations

При постоянном антропогенном воздействии на почву меняются и разрушаются микробоценозы, свойственные «здоровой» почве. Под «здоровьем» почвы можно понимать способность почвенной биосистемы в заданных пространственных границах поддерживать продуктивность растений и животных, сохранять приемлемое качество воды и воздуха, а также обеспечивать здоровье людей, животных и растений [1]. Одним из наиболее эффективных методов очистки окружающей среды от техногенных загрязнений является биоремедиация. При биоремедиации постепенное восстановление исходных параметров почвенного плодородия может происходить спонтанно за счёт растительно-микробной системы. Однако процессы эти порой очень медлительны и требуются усилия по повышению скорости репарационных процессов, что является одной из первостепенных задач почвенной биотехнологии.

В сравнении с другими методами очистки окружающей среды от загрязнения, биоремедиация *in situ* гораздо дешевле. По экспертным оценкам, средняя стоимость способов биоремедиации составляет менее 20% от стоимости химических методов. При рассеянном загрязнении альтернативы биоремедиации просто нет. [2]. В отличие от промышленной биотехнологии, где имеется возможность выдерживать все параметры технологического процесса, биоремедиация, как правило, осуществляется в открытой системе, т. е. в окружающей среде. Разно-

образии поллютантов, включая токсины биологического происхождения, попадающих в окружающую среду, диктует и разнообразие методов биоремедиации и применение широкого круга организмов-биоремедиаторов. В конечном итоге скорость и качество биоремедиационных процессов определяются тремя возможностями организмов или биосистем: 1) способностью к разрушению поллютантов до соединений менее токсичных или не токсичных совсем, 2) способностью извлекать поллютанты из окружающей среды и тем или иным способом производить их детоксикацию и 3) способностью ингибировать деятельность организмов-токсикообразователей. Первая особенность биоремедиаторов связана с синтезом экзоферментов, чаще всего гидролитических или оксидоредуктаз; вторая особенность определяется различными метаболическими механизмами, переводящими токсиканты в неактивное состояние; третья – основана на механизме антагонистической репрессии [3].

В системе биоремедиационных мероприятий опираются на следующие группы организмов, способных снижать токсичность загрязнённых почв:

- аборигенную микрофлору. При этом требуются дополнительные приёмы, обеспечивающие более активное размножение автохтонных видов, разрушающих или адсорбирующих ксенобиотики;
- выделенные и отселектированные штаммы микроорганизмов, обладающие

деструктивной способностью в отношении загрязняющих веществ. В этом случае используют и отселектированную аборигенную микрофлору, и специализированные микроорганизмы, выделенные из других загрязнённых местообитаний, чуждые для данного места (приём получил название «биоаугментация»);

– скомбинированные консорциумы микроорганизмов, члены которых аддитивно дополняют оздоровительные функции партнёров;

– высшие растения-фиторемедиаторы, способные аккумулировать загрязняющие вещества в своих органах, благодаря чему происходит удаление поллютантов непосредственно из почвы или воды с последующим удалением из экосистемы самих растений;

– ассоциативные растительно-ризомикробные комплексы, в которые микробы-детоксиканты вводятся путём инокуляции семян или иного посадочного материала.

Таким образом, накоплен сравнительно большой опыт биорекультивации техногенных территорий с использованием организмов различных систематических групп. Помимо этого проводятся стандартные исследования, в которых изучаются абиотические факторы, влияющие на скорость процесса биодegradации и глубину очистки от загрязнителя (температура, pH, влажность, уровень аэрации, концентрация самих загрязняющих веществ, наличие минеральных и органических источников питания для организмов-деструкторов и т. д.).

Для эколого-токсикологической характеристики биоремедиационных мероприятий предлагаются критерии оценки безопасности и эффективности технологий биоремедиации почвы: 1. Выделенные штаммы-биодеструкторы изучают на безвредность для теплокровных тест-животных по наиболее строгим критериям, принятым в международной практике для микроорганизмов-продуцентов лекарственных препаратов. 2. Перед биоремедиацией составляют (на основе данных химического анализа) карту участка, содержащую информацию о фактическом содержании загрязняющих веществ в почве и их распределении по почвенным горизонтам. 3. Для всесторонней оценки эффективности биоремедиации изучают интегральную токсичность почвы и её биофункциональную активность. 4. Оценивают риск заболеваемости населения, проживающего в зоне биоремедиации [4].

Стратегия использования микроорганизмов в охране окружающей среды осуществляется по двум главным направлениям – экстенсивному и интенсивному. Экстенсивные методы основаны на стимулировании или ингибировании деятельности аборигенных микроорганизмов, разрушающих ксенобиотики и представляют собой самостоятельный раздел биотехнологии, оперирующий с естественными ассоциациями в местах их природного существования. Эти методы основаны на процессах, характеризующихся небольшими скоростями, но они могут быть применены для охраны от загрязнения огромных объёмов почв и природных вод при небольших капитальных затратах. Интенсивные методы основаны на интродукции активных микроорганизмов-деструкторов в загрязнённую почву в виде суспензии свободных или иммобилизованных на специальных носителях клеток.

Биоремедиация с использованием аборигенной микрофлоры

Это группа приёмов, которая в настоящее время используется наиболее часто. На загрязнённые территории для стимуляции аборигенных микробных популяций вносят различные вещества: окислители, косубстраты (мелассу, этанол, навоз, навозные стоки), источники азота и фосфора, эмульгаторы. Для улучшения аэрации проводится вспашка почвы. Применимость и эффективность использования различных технологий активации автохтонной микрофлоры зависит от «возраста» и характера загрязнения, от механического состава почвы, размера очищаемой территории и направления её хозяйственного использования [5, 6]. В последнее время предложен сорбционно-биологический метод, основанный на использовании природных сорбентов и агроприёмов, создающих оптимальные условия для развития и жизнедеятельности собственной специфической почвенной биоты [7]. При этом сорбент играет роль своеобразного буфера, который поддерживает концентрацию химикатов в почвенном растворе на низком уровне токсичности, обеспечивая тем самым условия для детоксикации как растворённых, так и сорбированных ксенобиотиков.

Предложен оригинальный приём активации аборигенной микрофлоры, участвующей в деструкции нефти, который заключается в периодическом (1 раз в 4 месяца) внесении в загрязнённую почву углеводородокисляю-

щих бактерий [8]. Другими авторами [9] для стимуляции аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры в почвах, имеющих разный срок и тип нефтяного загрязнения, предлагаются приёмы, основанные на внесении минеральных удобрений, мелассы и поверхностно-активных веществ. Самая значительная убыль нефти (46% за 9 месяцев культивирования) наблюдалась при внесении всего комплекса стимулирующих добавок. Снижение содержания нефти в почве на 98,2% за семь месяцев биоремедиационных работ было достигнуто при комплексном использовании аборигенной микрофлоры, стимуляцию развития которой проводили путём внесения азотно-фосфатных удобрений. Дальнейшая интенсификация процесса деструкции углеводородов осуществлялась путём интродукции в нефтезагрязнённую почву предварительно выделенных из неё же нефтеокисляющих микроорганизмов, биомасса которых наращивалась в лабораторных условиях и в полевом резервуаре. Для ликвидации остаточных углеводородов, снижения фитотоксичности почвы и доведения всех агрохимических характеристик до нормы очищенную почву засеивали люцерной [10].

Биоремедиация с использованием интродуцируемых активных штаммов микроорганизмов-деструкторов

Обязательными условиями успеха интродукции являются: подробное исследование состояния экосистемы, в которую будут введены микроорганизмы-деструкторы; уровня концентрации загрязняющего вещества; деструктивной активности интродуцента. Прогноз успеха интродукции выделенного микроорганизма-деструктора составляется на основании проверки его стабилизации в модельной экосистеме и проявлении деструктивных свойств на уровне микробной нагрузки при соответствующих концентрациях загрязняющего вещества. Данные прогноза должны сочетаться с показателями абсолютной экологической безопасности интермедиатов тех метаболических преобразований, которые свойственны данному микроорганизму [11]. Кроме того, значительные успехи биоремедиационных мероприятий зависят от способа закрепления микроорганизмов-деструкторов на различных носителях – природных для почвы (торф, сапрпель, различные растительные остатки) и тонковолокнистых, мелкозернистых, обра-

зующих большую поверхность для закрепления, – при очистке сточных вод.

Комбинацией необходимых свойств для проведения биоремедиации, включая рост-стимулирующий эффект и антагонистическую активность против фитопатогенов обладают, в частности, бактерии рода *Pseudomonas* [12,13]. Биопрепараты, разработанные на основе штаммов этого рода, применяются как для защиты культурных растений от болезней, так и для ремедиации почв и водоёмов, загрязнённых нефтью и тяжёлыми металлами. Биовыщелачивание для очистки почв, загрязнённых ТМ, с последующей постадийной экстракцией осуществляется с помощью автотрофных бактерий *Thiobacillus spp.*, продуцирующих серную кислоту [14]. Наибольшее извлечение ТМ (~90%) установлено для Ва, Сu, Pb; для Cd, Co, Ni, Sr – 60–80%.

Изучена возможность удаления высокотоксичного металла кадмия из сточных вод с помощью живой и неживой биомассы актиномицетов [15]. Было показано, что параметры, влияющие на эффективность процесса удаления кадмия, – это время контакта, рН раствора, температура и концентрация биомассы бактерий и токсичного металла. Вслед за биосорбцией кадмия был использован метод дисперсионно-воздушной флотации для отделения собранных суспендированных нагруженных металлом микроорганизмов. При использовании оптимальных условий достигалось более чем 95%-ное удаление кадмия из раствора. В результате экспериментального и математического моделирования популяционной динамики ризосферных бактерий в условиях кадмиевого стресса была рекомендована к использованию в составе биопрепаратов для стимуляции роста растений в условиях загрязнения тяжёлыми металлами бактерия *Klebsiella mobilis* 880, которая обладала наибольшей миграционно-иммобилизационной активностью, наибольшей выживаемостью при кадмиевом стрессе [16]. При удалении из растворов ТМ используют и такую бактерию, как *Arthrobacter vicosus* [17]. Популяция бактерий, помещённая на гранулированный активированный уголь, способствовала удалению из загрязнённого раствора 50–100% свинца и 30–100% железа. Для удаления свинца из синтетических сточных вод используется отработанная биомасса *Corynebacterium glutamicum*, которая накапливается в ходе промышленной ферментации лизина [18]. Когда свинец связывается с биомассой, рН раствора падает, указывая, что протоны в биомассе

замещены на ионы свинца. По сравнению с другими сорбентами, такими как природный цеолит, активированный уголь и синтетические ионообменные смолы, протонированная биомасса коринебактерий признана вполне удовлетворительным биоматериалом для биоочистки загрязнённых вод.

Интродукция микроорганизмов-деструкторов в активный ил II и III очередей биологических очистных сооружений г. Могилёва успешно активизировала очистку производственных и ливневых стоков объёмом 130 тыс. м³/сут. от ингредиентов производства лавсана – метанола, динила, этиленгликоля, параксилола, диметилового эфира терефталевой кислоты до ПДК для очистных сооружений [19, 20].

Высокую эффективность удаления свинца из водных растворов показывают дрожжи *Rhodotorula glutinis*, способные за 10 минут сорбировать 80% свинца [21]. Эффективность сорбции резко возросла при увеличении концентрации биомассы до 2 г/л и далее сохранялась практически постоянной. Максимальная способность к сорбции свинца составляла 73,5 мг/г биомассы. Механизм удаления свинца с помощью дрожжей предусматривает прямое сорбционное взаимодействие с биомассой путём ионообмена или осаждения при высвобождении фосфата из биомассы. Эффективными биосорбентами таких металлов, как Ag, Au, Cd, Co, Cr, Ni, U, Th, Zn, являются дрожжи родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*. Оценка сорбционной способности организмов базируется на классической изотерме сорбции, которую получают в ходе равновесных экспериментов и которая зависит от pH, свойств ионов металлов, концентрации биомассы, присутствия различных органических и неорганических ионов, температуры. Дрожжевая биомасса может быть получена с помощью использования многих промышленных процессов, что значительно уменьшает стоимость сорбента [22]. Не только дрожжи, но и мицелиальные микромицеты способны удалять ТМ из водных сред. Данная способность к биосорбции Pb, Cd, Ni, Cr обнаружена у *Rhizopus arrhizus* и *Aspergillus niger* [23]. Ризопус максимально адсорбировал свинец (44,5%), аспергилл – кадмий (59,7%). Показана возможность адаптации грибов к высоким концентрациям ТМ (100 мг/л) на стадии активного роста. В этом случае адсорбция свинца ризопусом составляет около 60%. Авторы предлагают адаптированные к высоким концентрациям

ТМ штаммы грибов использовать для удаления ТМ из промышленных сточных вод.

Спорообразующие бактерии *Bacillus sp.* (биопрепарат Бациспецин) успешно применяются для снижения фитотоксичности нефтезагрязнённой серой лесной почвы. При этом снижение токсикоза почвы происходит не только в результате деградации нефти, но и путём подавления бациллами фитотоксических форм микромицетов, численность которых через полгода инкубации внесённых бактерий уменьшается на 12–20%, через год – на 20–25% [24]. Скорость самоочищения почвы от нефти повышается и в случае внесения различных видов рода *Azotobacter*. Доказано, что эти бактерии способны усваивать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии как в присутствии связанного азота, так и при азотфиксации [25]. Кроме того, азотобактер активизирует размножение и аборигенных углеводородокисляющих бактерий, входящих в состав препарата деворойл. Вследствие этого использование *Azotobacter* рекомендуют для повышения эффективности биоремедиации нефтезагрязнённых почв.

Наряду с бактериями в качестве основы биопрепаратов для ремедиации нефтезагрязнённых почв применяются, хотя и реже, грибы, способные к утилизации ксенобиотиков. Так, при культивировании специально отобранных штаммов ксилосапротрофных базидиомицетов снижение содержания нефти в субстрате составило 37–39% (род *Trametes*) и 21–22% (род *Fomitopsis*) за три недели [26]. Грибы развивались не только на поверхности, но и по всему объёму нефтезагрязнённого субстрата.

Высоко оцениваются перспективы создания биопрепарата на основе штаммов бактерий р. *Bacillus* для ремедиации почв, загрязнённых полихлорированными бифенилами (ПХБ). Коллекционные штаммы бацилл, выделенные из биогумуса и серозёмных почв, загрязнённых гексахлорциклогексаном, способны выживать в среде, где единственным источником питания и энергии являются ПХБ, и активно разрушают данные соединения [27].

На основании результатов изучения активности микроорганизмов-деструкторов хлорфенолов выявлена высокая способность представителей родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas* и *Bacillus* разрушать токсиканты, что в полной мере оправдывает использование их в очистке загрязнённой почвы [28].

Таблица

Влияние цианобактериальной обработки на всхожесть семян пшеницы в образцах почвы, отобранных вблизи ОХУХО

Содержание As, мг/кг	Всхожесть, %	
	Без цианобактериальной обработки	С цианобактериальной обработкой
2,04	70,0	73,3
2,26	23,3	40,0
3,44	30,0	60,0

Разработаны технологии восстановления городских почв, загрязнённых полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) на основе биопрепаратов, в состав которых включены аборигенные микроорганизмы-деструкторы ПАУ, носители для микроорганизмов и сорбенты для загрязнителей [29]. Внесение в почву микробиологического препарата резко ускоряет процесс биодegradации ПАУ по отношению к контрольной необработанной загрязнённой почве. За 3 месяца наблюдений в опытных вариантах разложилось от 65 до 95% ПАУ в зависимости от композиции препарата и концентрации ПАУ.

В экспериментах по биоремедиации нарушенных микробоценозов почв лесопитомников использовали метод биоаугментации, предполагающий внесение в загрязнённую почву специализированных микроорганизмов, способных изменить почвенную микробиоту и тем самым улучшить фитосанитарное состояние почв. Опытами было установлено, что наиболее активными микроорганизмами-интродуцентами для санации серых почв южно-таёжной зоны Сибири являются микровицеты из р. *Trichoderma* и бактерии из р. *Pseudomonas* [30].

В последние годы появился повышенный интерес к фотосинтезирующим микроорганизмам – цианобактериям (ЦБ) как предпочтительным биоремедиационным агентам по сравнению с гетеротрофными бактериями вследствие их независимости от углерода, а у азотфиксирующих гетероцистных штаммов – и от азота. Так, для очистки воды от фенолов, которые являются токсичными компонентами некоторых промышленных предприятий, использовали цианобактерию *Phormidium valderianum* [31]. Представители рр. *Chroococcus*, *Oscillatoria*, *Phormidium* обнаружены в массе в сточных водах предприятий, производящих пестициды, удобрения, красители для тканей, что делает эти ЦБ перспективными в отношении создания биосорбционных ловушек для токсикантов [32].

Разрабатываются технологии удаления ТМ из сточных вод с помощью экзополисахаридов ЦБ *Cyanospira capsulate*. При этом установлено, что эффективность удаления металлов прямо связана с высоким соотношением поверхности к объёму в системе, а биомасса ЦБ может многократно использоваться в циклах сорбции-десорбции металла без снижения эффективности его удаления [33].

Проведены исследования, которые доказали, что продукты жизнедеятельности ЦБ, развивающихся в очистных сооружениях, стимулируют рост и активность бактерий, утилизирующих фенол, дихлорацетат и дихлорфеноксиуксусную кислоту. Одновременное присутствие экссудатов ЦБ и указанных трёх субстратов оказывало синергическое действие на бактерии, осуществляющие биодegradацию контаминатов [34].

Оздоровительный эффект ЦБ проявляется также при их инокуляции в химически загрязнённую почву. Антистрессорная способность ЦБ была показана в опытах с образцами почв, отобранных вблизи объекта хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО) «Марадьковский» в Кировской области и содержащих повышенную концентрацию мышьяка [35]. Так, предпосевная обработка семян пшеницы культурой *Nostoc paludosum* значительно повышала всхожесть растений (табл.).

Биоремедиация с использованием микробных консорциумов

Микробные консорциумы (сообщества, ассоциации), как правило, включают несколько видов или штаммов микроорганизмов, искусственно сконструированных или природного происхождения. В основном эти организмы объединяются за счёт трофических связей типа метабиоза или протокооперации и успешно функционируют, пока в среде есть субстраты, поддерживающие их жизнедеятельность, включая высокотоксичные соединения.

Так, из зон антропогенного загрязнения выделена ассоциация штаммов *Pseudomonas stutzeri* и *Ps. putida*, способная к деструкции цианидов и тиоцианатов при их очень высокой концентрации в различных средах [36]. При совместном присутствии токсикантов ассоциация псевдомонад использует цианиды как источник азота, а тиоцианат – как источник серы.

С помощью двух различных подходов – эмпирического на основании физиологических и метаболических характеристик штаммов и селекции микроорганизмов-деструкторов при периодическом культивировании с нефтью при пониженной температуре получены микробные ассоциации как основа биопрепарата для биоремедиации почв, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами, в состав которых входят микроорганизмы-деструкторы углеводов нефти родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, психротрофные, галотолерантные, продуцирующие биоэмульгаторы [37].

Ассоциация грибов, относящихся к рр. *Acremonium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, была способна расти на сырой нефти и активно разрушала различные сочетания нефтяных углеводов. Подобные ассоциации микромицетов-деструкторов перспективны для последующего их применения при разработке проектов биотехнологической очистки окружающей среды [38].

При использовании созданного на основе природного консорциума микроорганизмов-нефтедеструкторов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter sp.* биопрепарата Леннойл уменьшалась фитотоксичность рекультивируемого нефтезагрязнённого выщелоченного чернозёма [39]. Ремедиационная способность микробного консорциума связана как со снижением содержания в почве остаточных углеводов, так и с перераспределением видов в комплексе почвенных микромицетов в сторону уменьшения удельного веса фитотоксических форм.

При исследовании возможного использования комплекса гриба *Pleurotus ostreatus* – почвенная микрофлора для биоремедиации нефтезагрязнённых почв было обнаружено, что гриб метаболизирует в основном ароматическую фракцию, тогда как почвенная микрофлора активно разрушает парафиново-нафтеновые углеводороды нефти. Интродукция гриба способствует деградации более широкого спектра углеводов нефти [40].

Для очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов разработан и внедрён на

территории Новополоцкого отделения нефтепровода «Дружба» препарат «Родобел-Т». Способ очистки почвы и технология его использования запатентованы в Республике Беларусь. Этот экологически безопасный препарат предназначен для очистки окружающей среды от загрязнения нефтью и продуктами её переработки, испытан на нефти, дизельном топливе, мазуте, тяжёлых продуктах переработки нефти (гудрон, битум) [41]. Препарат представляет собой ассоциацию микроорганизмов, активно утилизирующих углеводороды нефти. Содержит представителей гидрофильных и липофильных микроорганизмов, что обеспечивает возможность его действия на границе водно-нефтяного слоя и в толще загрязнителя. Микроорганизмы, входящие в препарат, выделены из природы, непатогенны, нетоксичны.

Биоремедиация с использованием природных микробных сообществ

Одним из недостатков использования в биоремедиации выделенных и отселектированных культур гетеротрофных микроорганизмов является то, что они обладают относительно узким спектром биогеохимических функций. В то же время природные сообщества имеют более широкий набор этих функций, так как включают в себя представителей нескольких трофических уровней, в том числе и фотосинтетиков: цианобактерий и эукариотных водорослей. Существование многовидовых микробных сообществ в виде биоплёнок имеет ряд экологических преимуществ. Биоплёнки проявляют более высокую адаптивную устойчивость в ответ на любые стрессовые воздействия в сравнении с «рассеянными» популяциями. В случае биоплёнок затруднено проникновение в глубинные слои токсических веществ. Поэтому удалённые от поверхности клетки успевают перейти в устойчиво-адаптационное состояние и противостоять действию токсических агентов [42]. При использовании подобных многовидовых сообществ для биоремедиации задача заключается в том, чтобы: 1) отыскать и селекционировать микробные сообщества, способные как выдержать токсичность среды, так и интенсивно деструктурировать загрязнения; 2) реализовать биопроцесс в лабораторном масштабе для демонстрации производительности и масштабности; 3) разработать технологическую схему для промышленного процесса и создать сопутствующие техноло-

гии, обеспечивающие накопление активной биомассы, запуск процесса и т. д. [43].

Перспективным направлением совершенствования процессов биоремедиации водных и почвенных экосистем является использование альго-цианобактериальных сообществ. Особую устойчивость к загрязняющим веществам проявляют цианобактериальные ассоциации. Они способны адаптироваться к нефти и нефтепродуктам, тяжёлым металлам, продуктам уничтожения химического оружия, поддерживать окислительный уровень экосистем за счёт выделения кислорода, увеличивать численность гетеротрофных спутников в ассоциациях [44–47]. Установлено, что консорциум, образуемый матообразующей цианобактерией (ЦБ) *Microcoleus chthonoplastes* и бактериями внутри её чехла, способен расти в присутствии неочищенной нефти и разлагать её компоненты. Большинство симбионтов в биоплёнке относятся к альфа, бета и гамма подклассам Proteobacteria, а также группе *Cytophaga/Flavobacterium/Bacteroides*. Отмечено присутствие азотфиксаторов, близких к *Rhizobium* и *Agrobacterium*. Это означает, что, по крайней мере, некоторые бактерии консорциума осуществляют азотфиксацию и разложение углеводов в чехле ЦБ, в то время как сама ЦБ снабжает их «жилём» и продуктами фотосинтеза – кислородом и органическим веществом [48]. Например, при внесении в загрязнённую почву наращенной биомассы природных биоплёнок с доминированием цианобактерии р. *Oscillatoria* эффективность очистки почвы от нефтепродуктов за 30–90 дней доходила до 100% в зависимости от концентрации нефтепродуктов. Активизация деятельности сообщества и интенсификация процессов деструкции загрязнителя зависела не от внесённой биомассы, а от числа внесённых отрезков осцилляториевых тяжей, так как из любого отрезка образуется одна зона зарастания, распространение которой не зависит от изначальной биомассы [44]. Показано также, что цианобактериальные биоплёнки с доминированием *Phormidium tenuissimum*, *Synechocystis minuscula*, *Synechococcus elongates*, выделенные из техногенных экосистем, при внесении в комплексе с минеральными удобрениями в нефтезагрязнённые почвы активизируют процессы деградации нефти [49]. Во многом деградационная способность цианобактерий по отношению к нефти объясняется тем, что в колониальной слизи цианобактерий создаются благоприятные условия для развития других микро-

организмов. Например, обнаружено, что даже при концентрации нефти в 5% в биоплёнках *Nostoc commune* резко возрастает количество углеводородокисляющих бактерий, способных использовать в своём метаболизме компоненты нефти [46].

В опытах с рядом сельскохозяйственных культур установлено, что природные плёнки *Nostoc commune* смягчали токсическое действие свинца и метилфосфоновой кислоты (МФК) при выращивании пелюшки и горчицы в загрязнённой среде [47].

Приведённые примеры позволяют считать цианобактериальные сообщества перспективными биотехнологическими объектами для разработки принципиально новых методов реабилитации техногенно загрязнённых территорий.

Биоремедиация с использованием высших растений (фитомелиорация)

Фиторемедиация – применение растений для очистки загрязнённых экосистем. Более десяти фиторемедиационных систем, в которых используют способность растений адсорбировать загрязнители, стали главной составляющей «очистительных» программ по всему миру. К 1998 году повсеместно было обнаружено около 400 природных растений, способных адсорбировать различные вещества, такие как тяжёлые металлы, мышьяк и фтор. Основные достоинства фиторемедиации заключаются в возможности рекультивации больших территорий, более низкой стоимости по сравнению с другими технологиями, высокой эффективности и отсутствии негативного влияния на окружающую среду. Потенциальные возможности детоксикации у растений обусловлены их анатомическим и морфологическим строением, особенностями физиологических и биохимических процессов. Основные фиторемедиационные технологии: фитоэкстракция, ризофильтрация, фитостабилизация, ризодеградация, фитодеградация, фитоиспарение [50–52]. Фитоэкстракция (фитоаккумуляция) заключается в поглощении тяжёлых металлов (ТМ) корнями и транслокации их в надземную часть растений и применяется для очистки загрязнённых тяжёлыми металлами почв. Высокой способностью накапливать тяжёлые металлы часто характеризуются трансгенные растения. Например, введением гена крысы в геном табака и водоросли группа учёных под руководством Ру Бинггена из Пекинского

университета получила растения, продуцирующие металлотионин – белок, образующийся в печени человека и других млекопитающих, который легко связывает тяжёлые металлы. По экспертным оценкам, ГМ растения недороги и эффективны в накоплении тяжёлых металлов из загрязнений окружающей среды. Теоретически некоторые гены могут быть внедрены в геном риса для создания его ГМ разновидности, которая будет адсорбировать тяжёлые металлы, не накапливая их в зерне. При ризофильтрации (фитофильтрации) происходит адсорбция или осаждение растворённых в воде солей металлов на поверхности корней или других частей водных или наземных растений. Высушенные, сожжённые или компостированные остатки растений, содержащих повышенные концентрации загрязнителей, после их аккумуляции, сорбции или осаждения утилизируются или перерабатываются. При фитостабилизации осуществляется перевод веществ из растворимой формы в нерастворимую в корневой зоне растений. Технологии фитоиспарения (фитовыпаривание, фитоволятизация) позволяют удалить загрязнители из почвы и грунтовых вод в газообразной форме, после чего он рассеивается до безопасных концентраций или подвергается фотоокислению. При ризодеградации (фитостимуляции) активными участниками фиторемедиационных мероприятий становятся ризосферные микроорганизмы, осуществляющие деструкцию органических загрязнителей. Фитодеградация (фитотрансформация) – процесс биотрансформации или деградации загрязнителей растительными ферментами.

Предпринята попытка создания стратегии биоремедиации экосистем в зонах химического загрязнения высокотоксичным ракетным топливом, которая основывается на результатах комплексных исследований закономерностей взаимодействия с токсикантом почв, растений и сопутствующей микрофлоры [53]. Важнейшим элементом разрабатываемой стратегии является снижение содержания ксенобиотиков в хозяйственно полезной части культурных и дикорастущих растений в районах падения отделяющихся ступеней ракет и зонах действия особо опасных химических производств с помощью созданного авторами стратегии кремний-содержащего хелатного микроудобрения (КХМ) и его новых композиций. Данные препараты снижают поступление ксенобиотика и продуктов его деструкции в растение, а

также компенсируют в зонах экологического риска в получаемой растительной продукции недостающие микроэлементы и биологически активные соединения.

При отборе растений для биоремедиации используют результаты опытов по тестированию на устойчивость при проращивании семян различных видов на загрязнённых средах или непосредственно, отбирая растения в природных условиях при тех или иных видах загрязнения. Так, в серии вегетационных опытов с искусственным загрязнением почвы химически чистыми солями тяжёлых металлов (Cu, Pb, Zn) было установлено, что все испытываемые культуры при внесении в почву 5 ОДК (ориентировочно-допустимое количество) ГМ по величине урожайности располагаются в следующем порядке: кормовые бобы > сурепка > гречиха > пырей > тимофеевка луговая [54].

Было проведено сравнение прорастания семян люцерны и овсяницы на почве, постоянно загрязнённой дизельным топливом. Показано, что овсяница проявляет более высокую жизнеспособность, чем люцерна, является относительно толерантной к дизельному топливу, и поэтому семена овсяницы могут быть использованы для фитовосстановления дизельнозагрязнённых почв [55].

Экспедиционные работы в 1998 году под руководством Чена Тонгбина в сильно загрязнённых плавильными предприятиями провинциях КНР выявили папоротник *Pteris vittata*, который не только интенсивно растёт в окружающей среде с высоким содержанием мышьяка, но и накапливает его высокий уровень в биомассе. До этого во всём мире не было обнаружено растения, способного к гипераккумуляции мышьяка в концентрации свыше 1000 мг/кг. К настоящему времени изучена генетическая основа гипераккумуляции мышьяка у растений *Pteris vittata*, и этот вид рассматривается как наиболее перспективный для фиторемедиации в Китае.

Такие растения, как крестовник и лисохвост, способны в условиях тундры заселять почву с загрязнением нефтью 10–27%, создавая при этом, благодаря активности почвенных микроорганизмов, очищенные зоны вблизи корней. Как показывает микробиологический анализ, в ризосфере этих растений численность бактерий и грибов на три-четыре порядка выше, чем в загрязнённой почве без растений. Делается вывод, что крестовник и лисохвост ускоряют самоочи-

щение загрязнённых нефтепродуктами почв и могут быть рекомендованы для их фиторемедиации [56].

Интересны опыты по использованию декоративных культур как фитомелиорантов в городской среде. Показано, что бархатцы, бегонии, амарант и 4 вида газонных злаков (райграс пастбищный, овсяница красная, костёр безостый, мятлик луговой) способны аккумулировать свинец и кадмий в своих органах. В конце вегетационного периода растения следует удалять с клумб и цветников вместе с корневой системой для дальнейшей утилизации [57].

Создана концептуальная модель технологии фитоэкстракции как одного из экономических и «мягких» способов ремедиации почв, загрязнённых ТМ. Среди культурных или местных дикорастущих растений подбираются виды, производящие большую биомассу и максимально аккумулирующие ТМ без выраженных признаков фитотоксичности. Скорость очистки почв от ТМ повышается за счёт использования так называемых эффекторов фитоэкстракции, многократно увеличивающих накопление загрязнителей в пожинаемой надземной массе. В этом качестве чаще всего выступают хелатообразующие агенты. Полученную биомассу утилизируют путём рекуперации ценных цветных металлов либо используют как биотопливо [58].

Биоремедиация с использованием растительно-ризомикробных комплексов

Одним из факторов, снижающих эффективность детоксикации поллютантов микроорганизмами, является их относительно низкая численность в почве без дополнительных источников органического вещества, которое для гетеротрофных микробов необходимо как источник питания и энергии. В то же время в ризосфере, где в результате экзоосмоса постоянно депонируются легкодоступные органические вещества в виде сахаров, органических кислот, аминокислот (у бобовых), численность микроорганизмов может быть на 1-2 порядка выше. В силу взаимовыгодного сосуществования растительно-микробные ассоциации и симбиозы имеют большие преимущества при выживании в неблагоприятных условиях. При этом их выживание обусловлено не только повышением толерантности к ксенобиотикам, но и активным удалением токсикантов из сферы обитания [51]. Фитопротекторный эффект

реализуется последовательностью событий: бактерии синтезируют фитогормоны (ИУК, этилен), за счёт чего усиливается экскреторная активность корней, соответственно, растёт число бактерий в ризоплане и увеличивается число бактерий, связывающих токсичные ионы в ризосфере. В результате уменьшается число свободных ионов, попадающих в растение [16]. В связи с этим привлекательно и перспективно комбинированное использование растений и ризосферных микроорганизмов, стимулирующих рост растений и одновременно обладающих способностью к деградации поллютантов, устойчивости к тяжёлым металлам и другим неблагоприятным факторам. В этом плане можно рассматривать два аспекта интродукции толерантных микроорганизмов в ризосферу: 1) при выращивании хозяйственно ценных растений на загрязнённых территориях добиваться снижения поступления токсикантов в органы растения и делать сельскохозяйственную продукцию безопасной для человека; 2) снижать токсичность почвы вследствие деградации поллютанта или закрепления его в клетках микроорганизмов или высших растений, которые в дальнейшем отчуждаются из почвы без использования на пищевые или кормовые цели.

В серии опытов было показано, что микробиологическая обработка семян снижает поступление ТМ в органы растений. Так, при инокуляции семян ассоциативными ризобактериями *Azospirillum lipoferum*, *Arthrobacter mysorens*, *Agrobacterium radiobacter*, *Flavobacterium sp.* происходила активная колонизация корней ячменя сорта Абава в присутствии токсичных для растений концентраций свинца и кадмия в почве (до 10 ПДК). Бактеризация семян положительно влияла на рост и улучшала потребление питательных элементов растениями из обогащённой тяжёлыми металлами почвы в условиях вегетационного и полевого опытов. Предпосевная обработка семян агробактериумом и флавобактериумом снижала поступление кадмия в разные органы растений на 6–40%. Бактеризация семян азоспириллой и агробактерией снижала поступление кадмия и свинца в растения на 10–50% [59, 60].

Инокуляции семян ячменя плазмидо-содержащими штаммами бактерий р. *Pseudomonas*, разлагающими полициклические ароматические углеводороды, выделенными из образцов почв, загрязнённых углеводородами нефти, эффективно защищала растения от фитотоксического действия последних [61].

Для фиторемедиации почв, загрязнённых мышьяком, использовали сахарное сорго, семена которого инокулировали природными и генетически модифицированными штаммами ризосферных бактерий *Pseudomonas aureofaciens*. Генетически модифицированные штаммы бактерий содержали конструкции, которые несли оперон устойчивости к мышьяку и содержали ген цитрат-синтетазы, продукты которой способствуют повышению растворимости фосфатов и арсенатов в почве, переводя их тем самым в доступную для растений форму. Растения сорго, выращенные из семян, инокулированных рекомбинантными штаммами, лучше выживали в почве, содержащей мышьяк, по сравнению с контрольными растениями. Через 35 суток после обработки растения, инокулированные штаммом, растворяющим фосфаты, содержали мышьяка почти на 30% больше, а растения, инокулированные штаммом, повышающим устойчивость к мышьяку, – на 20% больше, чем не инокулированные [62]. Техника комбинированной биофитоочистки загрязнённых почв или вод предполагает выращивание растений хлопчатника, бобов, кукурузы или папоротника на загрязнённых ТМ, мышьяком, цианидами субстратах в ассоциациях с ризосферными микроорганизмами, синергически взаимодействующими, не токсичными, не патогенными, способными питаться корневыми экссудатами растений (грибами *Trichoderma spp.*, бактериями *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*). Эта система, будучи привнесена в загрязнённый субстрат, эффективно и быстро поглощает токсины, аккумулирует и разлагает загрязнители и сильно снижает токсичность полициклических ароматических углеводородов и фенолов в почве и воде [63].

Определено, что фототрофные и хемотрофные микроорганизмы разных таксономических групп и их консорциумы с водными растениями (азолой, ряской, эйхорнией) способны аккумулировать ионы металлов Ni, Pt, Cu, Pb, Cr, Zn, Ti, Au, а также участвовать в деградации углеводородов и других поллютантов. Это позволяет использовать их для очистки сельскохозяйственных и промышленных сточных вод от токсичных тяжёлых металлов и для получения рассеянных дорогих металлов [64].

Накоплен определённый опыт применения сертифицированных биопрепаратов. Было доказано, что под влиянием ассоциативных микроорганизмов, входящих в состав препарата Микробиовит «Енисей», проис-

ходит полное или частичное снижение негативного действия солей цинка на рост и развитие проростков пшеницы. Ассоциативные микроорганизмы в концентрации 100 кл/мл снижали отрицательное действие солей цинка в интервалах от 2 до 32 ПДК [65].

В связи с уничтожением химического оружия на территории России в окружающей среде потенциально могут оказаться продукты детоксикации отравляющих веществ, в частности, такие как тиодигликоль (продукт гидролиза иприта) и метилфосфонофая кислота (продукт гидролиза зомана). Установлено, что сорго, овёс и подсолнечник при выращивании на почвах, загрязнённых данными соединениями, способны при определённых условиях аккумулировать до 25% этих веществ. При совместном действии растений и интродуцированных штаммов микроорганизмов-деструкторов, адаптированных к данным загрязнениям, снижение в почве продуктов детоксикации иприта и зомана в течение 2 месяцев достигает 50–60% [66].

Растительно-микробные системы в биоремедиации универсальны тем, что их можно применять для очистки среды от самых разных загрязнителей, подбирая комбинации компонентов микроорганизмы – растения – загрязнённая среда.

Литература

1. Кожевин П.А. «Здоровье» почвы как проблема биотехнологии // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Матер. междунар. конгресса. Ч. 2. М. 2007. С. 114.
2. Боронин А.М. Микроорганизмы для биоремедиации // Проблемы медицинской биотехнологии. Матер. юбилейной научной конференции, посвящённой 25-летию ГНЦ ПМ. Оболенск (Моск. обл.). 1999. С. 23–29.
3. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Попов Л.Б., Зыкова Ю.И. Биоремедиационные возможности почвенных цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. 2009. № 1. С. 8–17.
4. Жариков Г.А., Соколов М.С., Дядицев Н.Р. Эколого-токсикологическая оценка мероприятий по биоремедиации почв // 3-й Московский междунар. конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития». Материалы конгресса. Ч. 2. М. 2005. С. 14.
5. Ножевникова А.Н. Биоремедиация загрязнённых почв и грунтов // Экология микроорганизмов. Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2004. С. 196–199.
6. Градова Н.Б. Способы биоремедиации нефтезагрязнённых почв и грунтов: применимость, эффектив-

ность, направления развития // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Матер. 4-го Московского междунар. конгресса. М. 2007. С. 130.

7. Васильева Г.К., Стрижакова Е.Р., Субочева С.А. Сорбционно-биологическая очистка загрязнённых почв // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Матер. 2-го Московского междунар. конгресса. Ч. 2. М. 2003. С. 16.

8. Скворцова Т.А. Биоремедиация почвы ассоциативными углеводородокисляющими микроорганизмами // Бюл. ВИАУ. 2002. №116. С. 445–447.

9. Плешакова Е.В., Дубровская Е.В., Турковская О.В. Приёмы стимуляции аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры // Биотехнология. 2005. № 1. С. 42–50.

10. Карасёва Э.В., Гирич И.Е., Худокормов А.А., Алёшина Н.Ю., Карасёв С.Г. Биоремедиация чернозёмной почвы, загрязнённой нефтью // Биотехнология. 2005. № 2. С. 67–72.

11. Самсонова А.С. Экология микроорганизмов техногенных территорий // Микробиология и биотехнология на рубеже XXI столетия. Матер. междунар. конф. Минск. 2000. С. 83–85.

12. Боронин А.М. Биотехнология ремедиации почв на основе микробно-растительных взаимодействий // Биотехнология: состояние и перспективы. Матер. 1-го междунар. конгресса. М. 2002. С. 138.

13. Логинов О.Н. Новые микробиологические препараты для сельского хозяйства и восстановления окружающей среды: Автореф. ... дис. докт. биол. наук. Кашинцево: Всерос. НИИ биол. пром-сти, 2004. 48 с.

14. Kayser G., Koeckritz T., Markert B. Bioleaching zur Reinigung schwermetallbelasteter Boden mit *Thiobacillus spp.* // Wasser und Boden. 2001. V. 53. № 1-2. P. 54–58.

15. Kefala M.L., Zouboulis A.I., Matis K.A. Biosorption of cadmium ions by Actinomycetes and separation by flotation // Environ. Pollut. 1999. V. 104. № 2. P. 283–293.

16. Пищик В.Н., Воробьёв Н.И., Проворов Н.А. Экспериментальное и математическое моделирование популяционной динамики ризосферных бактерий в условиях кадмиевого стресса. Микробиология. 2005. Т. 74. № 6. С. 845–851.

17. Quintelas C., Tavares T. Lead and Iron removal from aqueous solution: Biosorption by a bacterial biofilm // Resour. and Environ. Biotechnol. 2002. V. 3. № 4. P. 193–202.

18. Choi S.B., Yun Y.S. Lead biosorption by waste biomass of *Corynebacterium glutamicum* generated from lysine fermentation process // Biotechnol. Lett. 2004. V. 26. № 4. P. 331–336.

19. Алещенкова З.М., Самсонова А.С., Семочкина Н.Ф. Влияние микроорганизмов-деструкторов на очистку в активном иле сточных вод производства лавсана // Прикл. биохимия и микробиология. 1999. Т. 35. № 4. С. 448–451.

20. Алещенкова З.М., Самсонова А.С., Семочкина Н.Ф. Интенсификация биологической очистки

сточных вод производства лавсана микроорганизмами-деструкторами, внесёнными в активный ил // Биотехнология. 1997. № 3. С. 48–52.

21. Cho Dae Haeng, Kim Eui Yong Characterization of Pb²⁺ biosorption from aqueous solution by *Rhodotorula glutinis* // Bioprocess and Biosyst. Eng. 2003. V. 25. № 5. P. 271–277.

22. Подгорский В.С., Касаткина Т.П., Лозовая О.Г. Дрожжи – биосорбенты тяжёлых металлов // Микробиол. ж. 2004. Т. 66. № 1. С. 91–103.

23. Bhattacharyya S., Pal Tapan K., Basumajumdar A., Banik A.K. Biosorption of heavy metals by *Rhizopus arrhizus* and *Aspergillus niger* // J. Indian. Chem. Soc. 2002. V. 79. № 9. P. 747–750.

24. Киреева Н.А., Бакаева М.Д., Тарасенко Е.М., Галимзянова Н.Ф., Новосёлова Е.И. Снижение фитотоксичности нефтезагрязнённой серой лесной почвы при биорекультивации // Агрохимия. 2003. № 2. С. 50–55.

25. Градова Н.Б., Горнова И.Б., Эддауди Р., Салина Р.Н. Использование бактерий рода *Azotobacter* при биоремедиации нефтезагрязнённых почв // Прикл. биохимия и микробиология. 2003. Т. 39. № 3. С. 318–321.

26. Ильчибакиева Э.У., Автономова А.В., Марченко М.Ю., Сквородко И.В., Барков А.В., Леонтьева М.И., Краснопольская Л.М., Винокуров В.А. Изучение биодеструкции нефти базидиомицетами // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2009. № 2. С. 179.

27. Ким А.А., Песцов Г.В., Ядгаров Х.Т., Джуманиязова Г.И., Зиновьев П.В., Джураева Г.Т., Абдукаримов А.А., Гинс В.К. Микроорганизмы – деструкторы полихлорированных бифенилов // Прикл. биохимия и микробиол. 2004. Т. 40. № 1. С. 70–73.

28. Алещенкова З.М., Самсонова А.С., Глушень Е.М., Филиппанова Л.И., Петрова Г.М., Рылюк В.В. Трансформационная активность микроорганизмов-деструкторов моноклорфенолов // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: Материалы междунар. конф. Минск, 2004. С. 42–43.

29. Малахова Д.В., Анкудинова А.К., Гарабаджиу А.В., Янкевич М.И. Восстановление городских почв, загрязнённых полициклическими ароматическими углеводородами, микробиологическим способом // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Матер. 4-го междунар. конгресса. М. 2007. С. 135.

30. Сорокин Н.Д., Гродницкая И.Д., Евграфова С.Ю., Пашенова Н.В. Биоиндикация и биоремедиация почв нарушенных лесных экосистем Сибири // Материалы 4-го съезда о-ва биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. М. 2006. С. 248–250.

31. Shashirekha S., Uma L., Subramanian G. Phenol degradation by marine cyanobacterium *Phormidium valderianum* BDU 30501 // J. Ind. Microbial. Biotechnol. 1997. V. 19(2). P. 130–133.

32. Parikh A., Shah V., Madamwar D. Cyanobacterial flora from polluted industrial effluents // Environ. Monit. and Assess. 2006. V. 116. № 1-3. P. 91–102.

33. Paperi R., Micheletti E., De Phillipis R. Optimization of copper sorbing-desorbing cycles with confined cultures of the exopolysaccharide-producing cyanobacterium *Cyanospira capsulate* // J. Appl. Microbiol. 2006. V. 101. № 6. P. 1351–1356.
34. Kirkwood A.E., Nalewajko C., Fulhorpe R.R. The effects of cyanobacterial exudates on bacterial growth and biodegradation of organic contaminants // Microbiol. Ecol. 2006. V. 51. № 1. P. 4–12.
35. Домрачева Л.И., Дабах Е.В., Кондакова Л.В., Вараксина А.И. Альго-микологические и фитотоксические комплексы при химическом загрязнении почвы // Экология и почва. Лекции и доклады XIII Всероссийской школы. Пущино. 2006. Т. 5. С. 88–98.
36. Григорьева Н.В. Деструкция цианидов и тиоцианатов ассоциацией гетеротрофных бактерий и её применение в биотехнологии: Автореф. ... дис. канд. биол. наук. М. 2006. 28 с.
37. Нечаева И.А., Филонов А.Е. Психротрофные микроорганизмы для биоремедиации нефтяных загрязнений в условиях холодного климата // Экотоксикология – современные биоаналитические системы, методы и технологии. Сб. статей Росс. школы-конф. молодых учёных. Пущино. 2006. С. 56.
38. Алиева С.Р. Биодegradация нефтяных углеводородов грибами, выделенными из прибрежных участков Апшеронского полуострова Каспийского моря // Биология: теория, практика, эксперимент: Матер. междунар. научн. конф., посвящённой 100-летию со дня рождения проф. Е.В. Сапожниковой. Саратов. 2008. С. 103–105.
39. Киреева Н.А., Рафикова Г.Ф., Галимзянова Н.Ф., Логинов О.Н., Кабиров Т.Р. Комплекс микроорганизмов нефтезагрязнённого чернозёма выщелоченного при рекультивации биопрепаратом Ленойл // Микол. и фитопатол. 2008. Т. 42. № 1. С. 57–63.
40. Позднякова Н.Н., Никитина В.Е., Турковская О.В. Биоремедиация нефтезагрязнённой почвы комплексом грибов *Pleurotus ostreatus* – почвенная микрофлора // Прикл. биохимия и микробиол. 2008. Т. 44. № 1. С. 69–75.
41. Самсонова А.С., Алещенкова З.М., Семочкина Н.Ф. Микробный препарат «Родобел» для очистки почвы от нефти // Материалы II Международного конгресса «Биотехнология – состояние и перспективы развития». М.: ЗАО «ПИК «Максима», РХТУ им. Д.И. Менделеева. 2003 Ч. 2. С. 40–41.
42. Szomolay B., Klapper I., Dockery J., Stewart P.S. Adaptive responses to antimicrobial agents in biofilms // Environ Microbiol. 2005. V. 7. № 8. P. 1186–1191.
43. Дунайцев И.А., Азбаров Г.И. Технология биодеструкции ядохимикатов и отравляющих веществ в водной и воздушной среде // Вода и экол. Проблемы и решения. 2003. № 3. С. 53–57.
44. Шадрин О.И. Цианобактериальные сообщества в практике рекультивации техногенных экосистем // 8-й съезд гидробиол. о-ва РАН: Тез. докл. Т. 3. Калининград. 2001. С. 89–90.
45. Сопрунова О.В., Держинская И.С. Проблемы и перспективы развития биоремедиации // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Матер. 2-го междунар. конгресса. Ч. 2. М. 2003. С. 10.
46. Киреева Н.А., Дубовик И.Е., Закирова З.Р. Консортивные связи цианобактерий типичного чернозёма при загрязнении нефтью // Почвоведение. 2007. № 6. С. 749–755.
47. Огородникова С.Ю., Кондакова Л.В., Домрачева Л.И., Фокина А.И., Ашихмина Т.Я., Олькова А.С. Защитная роль *Nostoc commune* для семян сельскохозяйственных культур при действии токсикантов (модельные опыты) // Проблемы региональной экологии. 2008. № 2. С. 96–100.
48. Sanchez O., Diestra E., Esteve I., Mas J. Molecular characterization of an oil-degrading cyanobacterial consortium // Microbiol. Ecol. 2005. V. 50. № 4. P. 580–588.
49. Сопрунова О.В. Функционирование цианобактериальных сообществ в условиях техногенных экосистем // Вестник МГУ. 2006. Сер. 16. № 2. С. 24–29.
50. Назаров А.В., Иларионов С.А. Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации // Биотехнология. 2005. № 5. С. 54–62.
51. Турковская О.В., Муратова А.Ю. Биодegradация органических поллютантов в корневой зоне растений // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. М.: Наука, 2005. С. 180–208.
52. Хидака Х., Садунишвили Т.А., Рамзден Д., Аплаков В.Р., Квеситадзе Г.И. Загрязнение окружающей среды и фиторемедиационные технологии // Annals of Agrarian Science. 2005. V. 3. № 4. P. 9–21.
53. Ермаков Е.И., Панова Г.Г., Степанова О.А. Стратегия биоремедиации химически загрязнённых экосистем // Экология. 2005. № 3. С. 193–200.
54. Буравцев В.Н., Головатый В.Г., Ильинский А.В., Котова Е.А., Головатая Н.Н. Подбор растений для фиторемедиации почв, загрязнённых тяжёлыми металлами // Научно-технические технологии в мелиорации: Матер. междунар. научной конф. (Костяковские чтения). М. 2005. С. 282–285.
55. Al-Ghazawi Z., Saadoun I., Al-Shak'ah A. Selection of bacteria and plant seeds for potential use in the remediation of diesel contaminated soils // J. Basic Microbiol. 2005. V. 45. № 4. P. 251–256.
56. Хабибуллина Ф.М. Почвенная микобиота естественных и антропогенно нарушенных экосистем северо-востока Европейской части России: Автореф. ... дис. докт. биол. наук. Сыктывкар. 2009. 40 с.
57. Гальченко С.В., Мажайский Ю.А. Фитомелиорация как способ детоксикации загрязнённых тяжёлыми металлами городов // Мелиорация и окружающая среда. М.: Всероссийский НИИ гидротехники и мелиорации. 2004. Т. 2. С. 3–6.

58. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Фитоэкстракция тяжёлых металлов из загрязнённых почв // *Агрехимия*. 2003. № 3. С. 77–85.

59. Степанок В.В., Юдкин Л.Ю., Рабинович Р.М. Влияние бактериализации семян ассоциативными диязотрофами на поступление свинца и кадмия в растения ячменя // *Агрехимия*. 2003. № 5. С. 69–80.

60. Белимов А.А., Кунакова А.М., Сафронова В.И., Степанок В.В., Юдкин Л.Ю., Алексеев Ю.В., Кожемяков А.П. Использование ассоциативных бактерий для инокуляции ячменя в условиях загрязнения почвы свинцом и кадмием // *Микробиология*. 2004. Т. 73. № 1. С. 118–125.

61. Анохина Т.О., Кочетков В.В., Зеленкова Н.Ф., Балакшина В.В., Боронин А.М. Биodeградация фенантрена ризосферными плазмидосодержащими бактериями рода *Pseudomonas* в модельных растительно-микробных ассоциациях // *Прикл. биохимия и микробиол.* 2004. Т. 40. № 6. С. 654–658.

62. Сизова О.И., Любунь Е.В., Кочетков В.В., Валидов Ш.З., Боронин А.М. Влияние природных и генетически модифицированных ризосферных бактерий *Pseudomonas aureofaciens* на накопление мышьяка

растениями // *Прикл. биохим. и микробиол.* 2004. Т. 40. № 1. С. 78–82.

63. Vinale F., Abadi K., Ruocco M., Marra R., Scala F., Zoina A., Lorito M. Remediation of pollution by using biological systems based in beneficial plant-microorganisms interactions // *J. Plant Pathol.* 2003. V. 85. № 4. P. 301–308.

64. Гоготов И.Н. Аккумуляция ионов металлов и деградация поллютантов микроорганизмами и их консорциумами с водными растениями // *Экол. пром. производства*. 2005. № 2. С. 33–37.

65. Сомова Л.А., Печуркин Н.С., Елманова Н.Г., Михеева Г.А. Влияние ассоциаций микроорганизмов на прорастание семян, рост и развитие проростков пшеницы при воздействии солей цинка // *Микробное разнообразие: состояние, стратегия сохранения, биотехнологический потенциал*. Матер. 2-й междунар. конф. Пермь. 2005. С. 96–97.

66. Ермакова И.Т., Шушкова Т.В., Старовойтов И.И., Фёдоров Е. Е., Щербаков А.А., Петрова А.А. Разработка методов фитобиоремедиации почв, загрязнённых продуктами детоксикации отравляющих веществ // *Поиск и использование новых биомолекул: биоразнообразие, окружающая среда, биомедицина: Тр. Междунар. конф. Пушчино*. 2004. С. 55–56.